(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 020818 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2015.02.27

(21) Номер заявки
201001628

(22) Дата подачи заявки
2009.04.10

(51) Int. Cl. *C12N 9/64* (2006.01)

(54) МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ ФАКТОРА VII И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) **61/124,021**
(32) **2008.04.11**
(33) **US**
(43) **2011.06.30**
(86) **PCT/US2009/002248**
(87) **WO 2009/126307 2009.10.15**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КАТАЛИСТ БИОСАЙЕНСИЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Мэдисон Эдвин Л., Тсэнос Кристофер (US)

(74) Представитель:
Стояченко И.Л. (RU)

(56) BJELKE ET AL.: "A loop of coagulation factor VIIa influencing macromolecular substrate specificity" FEBS LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 581, no. 1, 23 December 2006 (2006-12-23), pages 71-76, XP005815646 ISSN: 0014-5793 abstract; figure 1 page 73

WO-A-2007031559

DICKINSON C.D. ET AL.: "Identification of surface residues mediating tissue factor binding and catalytic function of the serine protease factor VIIa" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US, vol. 93, 1 December 1996 (1996-12-01), pages 14379-14384, XP002267001 ISSN: 0027-8424 abstract; figure 1

WO-A-2008090215

US-A1-2007117756

PERSSON E. ET AL.: "RATIONAL DESIGN OF COAGULATION FACTOR VLLA VARIANTS WITH SUBSTANTIALLY INCREASED INTRINSIC ACTIVITY" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE, WASHINGTON, DC, US, vol. 98, no. 24, 20 November 2001 (2001-11-20), pages 13583-13588, XP002909203 ISSN: 0027-8424 the whole document

ALLEN GEOFFREY A. ET AL.: "A variant of recombinant factor VIIa with enhanced procoagulant and antifibrinolytic activities in an in vitro model of hemophilia" ARTERIOSCLEROSIS THROMBOSIS AND VASCULAR BIOLOGY, vol. 27, no. 3, March 2007 (2007-03), pages 683-689, XP002538665 ISSN: 1079-5642 the whole document

WO-A-2007022512

WO-A-0158935

(57) Заявлены модифицированные полипептиды фактора VII. Такие модифицированные полипептиды фактора VII включают фактор VIIa и другие формы фактора VII. Среди описанных модифицированных полипептидов фактора VII имеются такие, которые имеют измененную активность, обычно измененную прокоагулянтную активность, включая увеличенную прокоагулянтную активность. Следовательно, такие модифицированные полипептиды могут быть использованы в терапии.

020818 B1

020818 B1

Родственные заявки

Преимущество приоритета принадлежит предварительной заявке на патент США № 61/124021 Edwin Madison и Christopher Thanos "Модифицированные полипептиды фактора VII и их применение", поданной 11 апреля 2008 г.

Эта заявка близка соответствующей заявке США 12/384915 Edwin Madison и Christopher Thanos "Модифицированные полипептиды фактора VII и их применение", поданной 10 апреля 2009 г., которая также претендует на приоритет предварительной заявки США 61/124021.

Где это возможно, содержание указанных выше заявок включено в настоящий документ в качестве ссылки в полном объеме. Где это возможно, содержание заявки США № 12/082662 Edwin Madison, Christopher Thanos, Sandra Waugh Ruggles и Shaun Coughlin "Модифицированные полипептиды фактора VII и их применение", поданной 11 апреля 2008 г., и соответствующей международной заявки № PCT/US 2008/04795 Edwin Madison, Christopher Thanos, Sandra Waugh Ruggles и Shaun Coughlin "Модифицированные полипептиды фактора VII и их применение", поданной 11 апреля 2008 г., также включено в настоящий документ в качестве ссылки в полном объеме. Перечень последовательностей включен в настоящий документ в качестве ссылки на компакт-диске.

Электронная версия Перечня последовательностей на компакт-диске (CD-R) прилагается к настоящему документу в четырех экземплярах (названных копия 1, копия 2, копия 3 и CRF), содержание которых включено в настоящий документ в качестве ссылки в полном объеме. Машиночитаемые файлы на каждом из вышеупомянутых компакт-дисков, созданные 10 апреля 2009 г., являются идентичными, обладают размером 1200 килобайт и названы 4919SEQ.PC1.TXT.

Область техники

В настоящем изобретении предусмотрены модифицированные белки для лечебных целей. В частности предусмотрены модифицированные полипептиды фактора VII, которые включают фактор VIIa и другие формы фактора VII, и их применение.

Уровень техники

Гемостаз представляет собой комплекс физиологических процессов, приводящий к прекращению кровотечения. Тромбоциты, белки плазмы и кровеносные сосуды с эндотелиальными клетками являются тремя составляющими этого процесса, каждое из них играет важную роль в событиях, которые непосредственно следуют за повреждением тканей и при нормальных обстоятельствах приводят к быстрому образованию сгустка. Центральное место в каскаде свертывания занимает ряд протеолитических актов, в которых некоторые белки плазмы (или факторы свертывания крови) последовательно активируются в "каскаде" другими ранее активированными факторами свертывания, что приводит к быстрому образованию тромбина. Большие количества образованного в этом каскаде тромбина затем расщепляют фибриноген до фибриновых пептидов, которые необходимы для образования сгустка.

Факторы свертывания циркулируют в крови в виде неактивных одноцепочечных зимогенов и активируются путем расщепления по одной или нескольким позициям с образованием двухцепочечной активированной формы белка. Фактор VII (FVII), витамин K-зависимый белок плазмы, первоначально циркулирует в крови как зимоген. Зимоген FVII активируется протеолитическим расщеплением по одному сайту, Arg152-Ile153, с образованием протеазы, состоящей из двух цепей, связанных простой дисульфидной связью (FVIIa). FVIIa связывает свой кофактор, тканевый фактор (ТФ), с образованием комплекса, в составе которого FVIIa может эффективно активировать фактор X (FX) в FXa, тем самым начиная серию событий, которые приводят к образованию фибрина и гемостазу.

Несмотря на то, что в большинстве случаев достигается нормальный гемостаз, дефекты в процессе могут привести к кровоточивости, при которой увеличивается необходимое для формирования сгустка время. Такие нарушения могут быть врожденными или приобретенными. Например, гемофилия A и гемофилия B являются наследственными заболеваниями, характеризующимися недостатком фактора VIII (FVIII) и фактора IX (FIX) соответственно. Заместительная терапия является традиционным способом лечения гемофилии A и гемофилии B и включает внутривенное введение фактора VIII или FIX, которые представляют собой полученные из человеческой плазмы или рекомбинантные белки. Во многих случаях, однако, пациенты вырабатывают антитела (также известные как ингибиторы) против вводимых белков, которые уменьшают или сводят на нет эффективность лечения. Рекомбинантный FVIIa (Novoseven® (фактор свертывания VIIa (рекомбинантный))) был одобрен для лечения пациентов с гемофилией A или B, у которых присутствуют ингибиторы фактора VIII или FIX, а также для использования для остановки кровотечений или предотвращения кровотечения, связанного с травмой и/или хирургическим вмешательством. Рекомбинантный FVIIa также был одобрен для лечения пациентов с врожденным дефицитом FVII и все чаще используется не по прямому назначению, например для лечения кровотечений, связанных с другими врожденными или приобретенными нарушениями свертываемости крови, травмами и операциями у пациентов, не больных гемофилией.

Применение рекомбинантного FVIIa для ускорения образования сгустка подчеркивает его растущее значение в качестве терапевтического средства. Лечение FVIIa в значительной мере не удовлетворяет медицинские потребности. Например, на основании данных клинических испытаний для помощи пациенту с гемофилией при остром кровотечении в среднем необходимы 3 дозы FVIIa в течение 6 ч или

большего периода времени. Для снижения этих потребностей необходимы более эффективные варианты FVIIa. Таким образом, одной из целей настоящего изобретения является обеспечение модифицированных полипептидов FVII с улучшенными лечебными свойствами.

Сущность изобретения

В настоящем документе представлены модифицированные полипептиды фактора VII (FVII). В частности, здесь представлены модифицированные полипептиды фактора VII, проявляющие прокоагулянтную активность. Полипептиды фактора VII обладают модификациями первичной последовательности по сравнению с немодифицированными полипептидами FVII и могут включать аминокислотные вставки, удаления и замены. Предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII включают полипептиды FVII, которые обладают повышенной устойчивостью к ингибиторам, таким как антитромбин III (AT-III) и ингибитор пути тканевого фактора (TFPI), полипептиды FVII, которые обладают повышенной устойчивостью к ингибиторному эффекту Zn, полипептиды FVII, которые обладают увеличенной каталитической активностью в присутствии и/или в отсутствие ТФ, полипептиды FVII, которые обладают улучшенными фармакокинетическими свойствами, такими как увеличенный период полураспада, полипептиды FVII, которые обладают повышенной способностью связывать тромбоциты и/или аффинностью к поверхности тромбоцитов, полипептиды FVII с повышенной способностью связывать сывороточный альбумин и/или аффинностью к сывороточному альбумину, и полипептиды FVII с повышенной способностью связывать интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ и/или аффинностью к интегрину тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$. Модифицированные полипептиды FVII могут содержать любую комбинацию предусмотренных в настоящем документе модификаций, при которой один или более видов активности или свойств полипептида изменены по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Обычно модифицированный полипептид FVII сохраняет прокоагулянтную активность. Также в настоящем документе предусмотрены молекулы нуклеиновой кислоты, векторы и клетки, которые кодируют/экспрессируют модифицированные полипептиды FVII. В данной заявке представлены также фармацевтические композиции, изделия, наборы и методы лечения. Полипептиды FVII включают аллельные и видовые варианты полипептидов и другие варианты, которые имеют модификации, затрагивающие другие виды активности и/или свойства. Также предусмотрены активные фрагменты полипептидов FVII, которые включают предусмотренные модификации. Примеры полипептидов FVII представляют собой полипептиды, которые включают последовательность аминокислот, приведенную в SEQ ID NO: 3, а также их варианты, обладающие 60, 65, 70, 75, 80, 85, 88, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или большей идентичностью последовательности с ними.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII (FVII), содержащие модификацию полипептида FVII в позиции Q286 полипептида FVII с последовательностью аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 3, или в соответствующих остатках полипептида FVII. Модификация может представлять собой замену аминокислоты, вставку аминокислоты (аминокислот), удаление аминокислоты (аминокислот) или их комбинацию. Если модификация представляет собой замену аминокислоты, аминокислота может быть заменена на основную аминокислоту (например, Arg (R), Lys (K) и His (H)) или аминокислоту, выбранную из Arg (R), Lys (K) His (H), Tyr (Y), GIy (G), Phe (F), Met (M), Ile (I), Leu (L), Val (V), Pro (P), Glu (E), Trp (W), Asp (D) и Cys (C). Примеры таких аминокислотных замен включают Q286R, Q286K, Q286H, Q286Y, Q286G, Q286F, Q286M, Q286I, Q286L, Q286V, Q286P, Q286E, Q286W, Q286D и Q286C. Такие изменения могут быть введены в немодифицированный полипептид FVII, содержащий последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 1-3, или в его аллельный или видовой вариант, или вариант, обладающий, по крайней мере, 60% идентичностью последовательности с FVII SEQ ID NO: 1-3, или изменения могут быть введены в активный фрагмент полипептида FVII, включающий последовательность аминокислот, приведенную в SEQ ID NO: 1-3, или в его аллельный или видовой вариант, или вариант, обладающий по крайней мере 60% идентичностью последовательности с FVII SEQ ID NO: 1-3. Например, модифицированный полипептид FVII может представлять собой активный фрагмент, который включает замену в положении, соответствующем положению Q286 в полипептиде FVII.

В некоторых примерах предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII содержат аминокислотную замену в положении, соответствующем положению 286 в полипептиде FVII с последовательностью аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 3, или содержат аминокислотную замену в соответствующем остатке в полипептиде FVII, где модификация представляет собой замену в положении 286 на основную аминокислоту, что приводит к модифицированному полипептиду FVII, который проявляет увеличенную коагулянтную активность по сравнению с полипептидом FVII, который не обладает модификацией в положении 286. Основные аминокислоты могут быть выбраны из Arg (R), Lys (K) и His (H). Например, предусмотренный в настоящем документе модифицированный полипептид FVII может содержать замену Gln (Q) на Arg (R) в позиции 286.

В некоторых примерах модифицированные полипептиды FVII включают только одну модификацию в положении 286. В других примерах модифицированные полипептиды FVII также содержат одну или несколько дополнительных модификаций в другом положении в полипептиде FVII. Дополнительная модификация может представлять собой замену аминокислоты, вставку или удаление. Например, допол-

нительная модификация может представлять собой замену аминокислоты в положении, выбранном из A51, S52, P54, S60, Q66, Y68, K109, S119, A122, G124, T130, E132, V158, K161, A175, D196, K197, K199, R202, H216, S222, G237, T239, H257, Q286, L287, R290 A292, A294, E296, M298, L305, S314, G318, P321, K337, K341, Q366, H373, F374, E394, P395 и R396. Примеры таких модификаций включают D196K, D196R, D196A, D196Y, D196F, D196W, D196L, D196I, K197Y, K197A, K197E, K197D, K197L, K197M, K197I, K197V, K197F, K197W, K199A, K199D, K199E, G237W, G237T, G237I, G237V, T239A, R290A, R290E, R290D, R290N, R290Q, R290K, R290M, R290V, K341E, K341R, K341Q, K341N, K341M, K341D, G237T238вставкаA, G237T238вставкаS, G237T238вставкаV, G237T238вставкаAS, G237T238вставкаSA, D196K197вставкаK, D196K197вставкаR, D196K197вставкаY, D196K197вставкаW, D196K197вставкаA, D196K197вставкаM, K197I198вставкаE, K197I198вставкаY, K197I198вставкаA, K197I198вставкаS, T239S, T239N, T239Q, T239V, T239L, T239H, T239I, L287T, M298Q, P321K, P321E, P321Y, P321S, Q366D, Q366E, Q366N, Q366T, Q366S, Q366V, Q366I, Q366L, Q366M, H373D, H373E, H373S, H373L, H373I, H373F, H373A, K161S, K161A, K161V, H216S, H216A, H216K, H216R, S222A, S222K, S222V, S222N, S222E, S222D, H257A, H257S, замена Gla из FIX, {замена Gla из FIX/E40L}, {замена Gla из FIX/K43I}, {замена Gla из FIX/Q44S}, {замена Gla из FIX/MI9K }, {замена Gla из FIX/MI9K/ E40L/K43I/Q44S}, замена Gla из FX, замена Gla из белка C, замена Gla из белка S, замена Gla из тромбина, S52A, S60A, E394N, P395A, R396S, R202S, A292N, A294S, G318N, A175S, K109N, A122N, G124S, A51N, T130N, E132S, S52N, P54S, S119N, L121S, T128N, P129A, Q66N, Y68S, S103S111удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF, H115S126удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF, T128P134удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF, S103S111удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE, H115S126удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE, T128P134удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE, S103S111удаление/вставкаDICLPRWGCLWED, H115S126удаление/вставкаDICLPRWGCLWED, T128P134удаление/вставкаDICLPRWGCLWED, P406вставкаIEDICLPRWGCLW, P406вставкаGGGSIEDICLPRWGCLW, P406вставкаDICLPRWGCLWED, P406вставкаGGGSDICLPRWGCLWED , S103S111удаление/вставкаSFGRGDIRNV, H115S126удаление/вставкаSFGRGDIRNV, T127P134удаление/вставкаSFGRGDIRNV, P406вставкаCSFGRGDIRNVC, P406вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC, V158T, V158D, L287T, E296V, M298K и M298Q.

Примеры предусмотренных в данной заявке модифицированных полипептидов FVII включают полипептиды, содержащие модификации

Q286R/M298Q, Q286R/замена Gla из FIX, Q286R/H257A, Q286R/S222A, Q286R/S222A/H257A, Q286R/S222A/замена Gla из FIX, Q286R/H257A/замена Gla из FIX, Q286R7S222A/H257A/ замена Gla из FIX, Q286R/M298Q/K341Q, Q286R/M298Q/K199E, Q286R/M298Q/замена Gla из FIX, Q286R/Q366V, Q286R/A292N/A294S/Q366V, A175S/Q286R/Q366V, S222A/Q286R/Q366V, H257S/Q286R, H257S/Q286R/Q366V, S222A/H257A/Q286R/Q366V, Q286R/H373A, S222A/H257A/Q286R/M158Q, Q286R/K341D, Q286R/Q366D, Q286R/Q366N, Q286R/M298Q/Q366D, Q286R/M298Q/Q366N, Q286R/H373F, Q286R/M298Q/H373F, {замена Gla из FIX/E40L}/Q286R/M298Q, {замена Gla из FIX/K43I}/Q286R/M298Q, {замена Gla из FIX/Q44S}/Q286R/M298Q, {замена Gla из FIX/M19K}/Q286R/M298Q, {замена Gla из FIX/M19K/E40L/K43I/Q44S}/Q286R/M298Q, T128N/P129A/Q286R, T128N/P129A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/Q286R/H373F, V158D/Q286R/E296V/M298Q, замена Gla из FIX/T128N/P129A/S222A/Q286R, замена Gla из FIX/T128N/P129A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/S222A/H257A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/Q286R/M298Q/H373F, S52A/S60A/Q286R, замена Gla из FIX/S52A/S60A/S222A/Q286R, S52A/S60A/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/S52A/S60A/Q286R/M298Q, S52A/S60A/S222A/H257A/Q286R/M298Q, S52A/S60A/Q286R/H373F/, S52A/S60A/Q286R/M298Q/H373F, T239V/Q286R, замена Gla из FIX/S222A/T239V/Q286R, T239V/Q286R/M298Q, S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/T239V/Q286R/M298Q , T239V/Q286R/H373F, T239V/Q286R/M298Q/H373F, T239I/Q286R, замена Gla из FIX/S222A/T239I/Q286R, T239I/Q286R/M298Q, S222A/T239I/H257A/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/T239I/Q286R/M298Q, T239I/Q286R/H373F, T239I/Q286R/M298Q/H373F, замена Gla из FIX/S222A/Q286R/H373F, замена Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q/H373F, VI58D/Q286R/E296V/M298Q/H373F, H257A/Q286R/M298Q, H257S/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/S222A/H257S/Q286R/, S222A/H257S/Q286R/M298Q, H257S/Q286R/M298Q/H373F, S222A/Q286R/M298Q/H373F, S222A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/A175S/Q286R, A122N/G124S/A175S/Q286R, замена Gla из FIX/T128N/P129A/A175S/S222A/Q286R, замена Gla из FIX/A122N/G124S/A175S/S222A/Q286R, T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q, A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q, T128H/P129A/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q, A122N/G124S/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q/H373F, A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q/H373F, {замена Gla из FIX/K43I}/T128N/P129A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N, {замена Gla из FIX/K43I}/Q286R/M298Q/Q366N, {замена Gla из FIX/K43I}/T128N/F129A/Q286R/M298Q/Q366N, V158D/Q286R/E296V/M298Q, T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N/H373F, T239V/Q286R/M298Q/Q366N, T239I/Q286R/M298Q/Q366N, T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q, T128N/P129A/S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q, T128H/P129A/T239V/Q286R/M298Q/H373F, T128H/P129A/T239I/Q286R/M298Q или T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q/H373F.

В заявке предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие две или более моди-

фикаций в полипептиде FVII, их аллельные или видовые варианты или их активные фрагменты. По меньшей мере одна из модификаций в таких полипептидах находится в положении, соответствующем положению Q286 в полипептиде FVII с последовательностью аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 3, или в соответствующих остатках в полипептиде FVII, предусмотренном в настоящем документе, при условии, что модификация в положении Q286, отдельно или в сочетании с любой другой модификацией, не приводит к введению нового сайта гликозилирования по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Такие модификации могут представлять собой замены аминокислот, вставки или удаления. Например, модификация в положении Q286 может представлять собой замену на аминокислоту, выбранную из Arg (R), Lys (K) His (H), Tyr (Y), Gly (G), Phe (F), Met (M), Ile (I), Leu (L), Val (V), Pro (P), Glu (E), Trp(W), Asp (D) и Cys (C). В некоторых примерах, модификация представляет собой Q286R. Одна или несколько других модификаций может быть выбрана из модификаций

D196K, D196R, D196A, D196Y, D196F, D196W, D196L, D196I, K197Y, K197A, K197E, K197D, K197L, K197M, K197I, K197V, K197F, K197W, K199A, K199D , K199E, G237W, G237T, G237I, G237V, T239A, R290A, R290E, R290D, R290N, R290Q, R290K, R290M, R290V, K341E, K341R, K341Q, K341N, K341M, K341D, G237T238вставкаA, G237T238вставкаS, G237T238вставкаV, G237T238вставкаAS, G237T238вставкаSA , D196K197вставкаK, D196K197вставкаR, D196K197вставкаY, D196K197вставкаW, D196K197вставкаA, D196K197вставкаM, K197I198вставкаE, K197I198вставкаY, K197I198вставкаA, K197I198вставкаS, T239S, T239N, T239Q, T239V, T239L, T239H, T239I, L287T, P321K, P321E, P321Y, P321S, Q366D, Q366E, Q366N , Q366T, Q366S, Q366V, Q366I, Q366L, Q366M, H373D, H373E, H373S, H373F, H373A, K161S, K161A, K161V, H216S, H216A, H216K, H216R, S222A, S222K, S222V, S222N, S222E, S222D, H257A , H257S, замена Gla из FDC, {замена Gla из FDC/E40L}, {замена Gla из FIX/K43I}, {замена Gla из FIX/Q44S}, {замена Gla из FIX/M19K}, {замена Gla из FDC/M19K/E40L/K43I/Q44S}, замена Gla из FX, замена Gla из белка C, замена Gla из белка S, замена Gla из тромбина, S52A, S60A, E394N, P395A, R396S, R202S, A292N, A294S, G318N, A175S, K109N, A122N, G124S, A51N, T130N , E132S, S52N, P54S, S119N, L121S, T128N, P129A, Q66N, Y68S, S103S111удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,

H115S126удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,
T128P134удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,
S103S111удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE,
H115S126удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE,
T128P134удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE,
S103S111удаление/вставкаDICLPRWGCLWED,
H115S126удаление/вставкаDICLPRWGCLWED,
T128P134удаление/вставкаDICLPRWGCLWED, P406вставкаIEDICLPRWGCLW,
P406вставкаGGGSIEDICLPRWGCLW, P406вставкаDICLPRWGCLWED,
P406вставкаGGGSDICLPRWGCLWED, S103S111удаление/вставкаSFGRGDIRNV,
H115S126удаление/вставкаSFGRGDIRNV, T127P134удаление/вставкаSFGRGDIRNV,
P406вставкаCSFGRGDIRNVC, P406вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC, V158T, V158D,
L287T, E296V, M298K и M298Q.

В некоторых примерах модифицированные полипептиды FVII включают модификацию в положении, соответствующем положению P54, Q66, L121, A122, P129 или E132 в полипептиде FVII с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 3, или включают модификацию в соответствующих остатках в полипептиде FVII. Примеры модификаций включают P54S, Q66N, L121S, A122N, P129A и E132S. В некоторых примерах модифицированные полипептиды FVII, содержащие модификацию в положении, соответствующем P54, Q66, L121, A122, P129 или E132, также содержат одну или несколько дополнительных модификаций, включая замену аминокислоты, вставку и удаление в другом положении полипептида FVII. Такие модификации включают P54S, S52N, Y58S, S119N, G124S, T128N, T130N, V158D, A175S, S222A, G241S, E296V, M298Q, E394N, P395A, R396S, G318N и Q366V. Таким

образом, примеры сочетания модификаций полипептида FVII, предусмотренные здесь, включают S119N/L121S, T128N/P129A, A122N/G124S, A122N/G124S/A175S,

A122N/G124S/E394N/P395A/R396S, A122N/G124S/E394N/P395A/R396S/G318N,

A122N/G124S/E394N/P395A/R396S, S52N/P54S/A122N/G124S/E394N/P395A/R396S,

S52N/P54S, S119N/L121S/A175S, T128N/P129A/A175S, T130N/E132S, Q66N/Y68S,

T128N/P129A/V158D/E296V/M298Q, T128N/P129A/S222A,

T128N/P129A/A175S/Q366V, A122N/G124S/A175S/Q366V, T128N/P129A/A175S/S222A,

A122N/G124S/A175S/S222A , T128N/P129A/M298Q и T128N/P129A/M298Q/H373F.

Кроме того, в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, включающие модификацию

T239S, T239Q, T239V, T239L, T239H,

T239I, P321K, P321E, P321Y, P321S, Q366D, Q366N, Q366V, Q366I, Q366L, Q366M,

H373D, H373E, H373S, H373F, H373A, K161S, K161V, H216S, H216K, H216R, S222A,

S222K, S222V, S222D, S222N, S222E или H257S

в полипептиде FVII с последовательностью аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 3, или в соответствующих остатках в полипептиде FVII. Дополнительно такие модифицированные полипептиды FVII также могут содержать одну или несколько дополнительных модификаций в другом положении, например, в аминокислотной позиции

A51, S52, P54, S60, Q66, Y68, K109, S119, A122, G124, T130, E132, V158, K161,

A175, D196, K197, K199, R202, H216, S222, G237, T239, H257, Q286, L287, R290 A292,

A294, E296, M298, L305, S314, G318, P321, K337, K341, Q366, H373, F374, E394, P395 и

R396. Примеры модификаций по этим положениям включают Q286N, Q286E, Q286D,

Q286S, Q286T, Q286R, Q286K, Q286A, Q286V, Q286M, Q286L, Q286Y, D196K, D196R,

D196A, D196Y, D196F, D196W, D196L, D196I, K197Y, K197A, K197E, K197D, K197L,

K197M, K197I, K197V, K197F, K197W, K199A, K199D, K199E, G237W, G237T, G237I,

G237V, T239A, R290A, R290E, R290D, R290N, R290Q, R290K, R290M, R290V, K341E,

K341R, K341Q, K341N, K341M, K341D, G237T238вставкаA, G237T238вставкаS,

G237T238вставкаV, G237T238вставкаAS, G237T238вставкаSA, D196K197вставкаK,

D196K197вставкаR, D 196K197вставкаY, D 196K197вставкаW, D196K197вставкаA,

D196K197вставкаM, K1971198вставкаE, K197I198вставкаY, K197I198вставкаA,

K197I198вставкаS, T239S, T239N, T239Q, T239V, T239L, T239H, T239I, L287T, P321K,

P321E, P321Y, P321S, Q366D, Q366E, Q366N, Q366T, Q366S, Q366V, Q366I, Q366L,

Q366M, H373D, H373E, H373S, H373F, H373A , K161S, K161A, K161V, H216S, H216A,

H216K, H216R, S222A, S222K, S222V, S222N, S222E, S222D, H257A, H257S, замена Gla

из FIX, замена Gla из FX, замена Gla из белка C, замена Gla из белка S, замена Gla из

тромбина, замена Gla из FIX, {замена Gla из FIX/E40L}, {замена Gla из FIX/K43I},

{замена Gla из FIX/Q44S}, {замена Gla из FIX/M19K}, {замена Gla из

FIX/MI9K/E40L/K43I/Q44S}, S52A, S60A, E394N, P395A, R396S, R202S, A292N, A294S,

G318N, A175S, K109N, A122N, G124S, A51N, T130N, E132S, S52N, P54S, S119N,

L121S, T128N, P129A, Q66N, Y68S,

S103S111удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,

H115S126удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,

T128P134удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,

S103S111удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE,

H115S126удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE,

T128P134удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE,

S103S111удаление/вставкаDICLPRWGCLWED,

H115S126удаление/вставкаDICLPRWGCLWED,

T128P134удаление/вставкаDICLPRWGCLWED, P406вставкаIEDICLPRWGCLW,

P406вставкаGGGSIEDICLPRWGCLW, P406вставкаDICLPRWGCLWED,

P406вставкаGGGSDICLPRWGCLWED, S103S111удаление/вставкаSFGRGDIRNV,

H115S126удаление/вставкаSFGRGDIRNV, T127P134удаление/вставкаSFGRGDIRNV,

P406вставкаCSFGRGDIRNVC, P406вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC, V158T, V158D,

L287T, M298K и M298Q. Таким образом, комбинация модификаций может включать модификации Q366D/H373E, Q366V/H373V, Q366V/H373L, Q366V/H373I, S222K/H257A, H216A/S222A, S222S/замена Gla из FIX, S222A/H257A/замена Gla из FIX, S222A/M298Q, S222A/H257A/M298Q, S222A/A292N/A294S/Q366V, A175S/S222A/Q366V, S222A/Q366V, H257S/Q366V, S222A/H373A, M298Q/H373F, S52A/S60A/S222A, S222A/T239V, V158D/T239V/E296V/M298Q, S222A/T239I, V158D/E296V/M298Q/H373F, замена Gla из FIX/Q366V, M298Q/Q366N/H373F, T239V/M298Q/H373F и T239I/M298Q/H373F.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие две или более модификаций в полипептиде FVII, их аллельные и видовые варианты или активные фрагменты, в которых две или более модификаций аминокислот выбраны из модификаций аминокислот H216A, H257A, E394N, P395A, R396S, K109N, A292N, A175S, H257A и замена Gla из FIX. Например, предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII относятся к полипептидам с модификациями, выбранными из H216A/H257A, E394N/P395A/R396S и K109N/A175S. Кроме того, также могут быть включены модификации M298Q или A294S. Таким образом, в настоящем документе также предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, включающие модификации, выбранные из H216A/H257A, E394N/P395A/R396S и K109N/A175S. В некоторых примерах модифицированные полипептиды FVII также содержат соответствующие модификации M298Q или A294S. Это может привести, например, к модифицированным полипептидам FVII, включающим модификации H257A/M298Q или K109N/A292N/A294S. Также в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, включающие модификации S52A/S60A/V158D/E296V/M298Q или V158D/T239I/E296V/M298.

В некоторых примерах предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII содержат связывающую сывороточный альбумин последовательность, такую как последовательность аминокислот, приведенная в любой из последовательностей SEQ ID NO: 103-109, или ее часть, достаточную для связывания сывороточного альбумина. Такие модифицированные полипептиды FVII могут проявлять повышенную аффинность к сывороточному альбумину или повышенную способность связывать сывороточный альбумин по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Например, модифицированные полипептиды FVII, содержащие связывающую сывороточный альбумин последовательность, могут обладать повышенной аффинностью или повышенной способностью связывать сывороточный альбумин по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% или более. Связывающая сывороточный альбумин последовательность может заменить непрерывную последовательность аминокислотных остатков немодифицированного полипептида FVII. Модифицированные полипептиды FVII, содержащие связывающую сывороточный альбумин последовательность, могут содержать модификации, выбранные из

S103S111удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,

H115S126удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,

T128P134удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,

S103S111удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE,

H115S126удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE,

T128P134удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE,

S103S111удаление/вставкаDICLPRWGCLWED,

H115S126удаление/вставкаDICLPRWGCLWED,

T128P134удаление/вставкаDICLPRWGCLWED, P406вставкаIEDICLPRWGCLW,

P406вставкаGGGSIEDICLPRWGCLW, P406вставкаDICLPRWGCLWED и

P406вставкаGGGSDICLPRWGCLWED.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие связывающую интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность. Такие модифицированные полипептиды FVII могут проявлять повышенную аффинность или связывание с интегрином тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Например, модифицированные полипептиды FVII, содержащие связывающую интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность, могут обладать аффинностью или связыванием с интегрином тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ повышенным по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Примеры связывающей сывороточный альбумин последовательности, которая может заменить непрерывную последовательность аминокислотных остатков немодифицированного полипептида FVII, включают последовательности аминокислот, приведенные в любой из SEQ ID NO: 110-112, или их части, достаточные для связывания интегрина тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$. Модифицированные полипептиды FVII содержат модификации, выбранные из

S103S111удаление/вставкаSFGRGDIRNV, H115S126удаление/вставкаSFGRGDIRNV,

T127P134удаление/вставкаSFGRGDIRNV, P406вставкаCSFGRGDIRNVC и

P406вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC.

Модифицированные полипептиды FVII, содержащие связывающие сывороточный альбумин или интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательности, также могут содержать одну или несколько дополнительных модификаций в других положениях полипептида FVII, таких как замена аминокислоты в положении, соответствующем положению G237V. Таким образом, в настоящем документе также предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие модификации,

выбранные из S103S111удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V,

S103S111удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V,

H115S126удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V,

H115S126удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V,

H115S126удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V,

T128P134удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V,

T128P134удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V,

S103S111удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V и

T128P134удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V.

В некоторых примерах в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие 2, 3, 4, 5, 6, 7 или более модификаций. В дополнительных примерах предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII содержат гетерологичный домен Gla или его часть, достаточную для связывания фосфолипидов. Такие полипептиды могут проявлять повышенную аффинность или повышенное связывание с фосфолипидами по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII, например аффинность или связывание с фосфолипидами, повышенные по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% или более. Гетерологичные домены Gla могут быть выбраны из домена Gla фактора IX (FIX), фактора X (FX), протромбина, белка C, белка S, остеокальцина, матриксного белка Gla, Growth-arrest-specific белка 6 (Gas6) и белка Z и в некоторых примерах могут иметь последовательность

аминокислот, приведенную в любой из SEQ ID NO: 83-91, 93 и 94, или ее часть, достаточную для связывания фосфолипидов. Нативный домен Gla фактора FVII или его непрерывная часть, которая может включать аминокислоты 1-45 в полипептиде FVII с последовательностью аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 3, или соответствующие остатки в полипептиде FVII, можно удалить и заменить гетерологичным доменом Gla, или его частью, достаточной для связывания фосфолипидов. Предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII могут обладать повышенной устойчивостью к антитромбину III по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Такие модифицированные полипептиды FVII могут обладать большей устойчивостью к антитромбину III по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с устойчивостью немодифицированного полипептида FVII. Предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII также могут обладать повышенной каталитической или коагулянтной активностью по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII, например повышенной по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% и более по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Кроме того, модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут обладать повышенной устойчивостью к TFPI по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Такие модифицированные полипептиды FVII могут быть более устойчивы к TFPI по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% и более по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII также могут обладать повышенной устойчивостью к ингибиторному эффекту Zn^{2+} по сравнению с немодифицированными полипептидами FVII. Например, модифицированные полипептиды FVII могут быть более устойчивы к ингибиторному эффекту Zn^{2+} по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% и более по сравнению с немодифицированными полипептидами FVII.

В некоторых примерах предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII содержат одну или несколько модификаций, которые вводят и/или ликвидируют один или несколько сайтов гликозилирования по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Например, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более сайтов гликозилирования могут быть введены или ликвидированы. Сайты гликозилирования, которые могут быть введены или ликвидированы, включают сайты N-гликозилирования и O-гликозилирования. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут содержать одну или несколько других модификаций аминокислот, повышающих устойчивость к антитромбину-III, увеличивающих связывание и/или аффинность к фосфолипидам, повышающих аффинность к тканевому фактору, увеличивающих собственную активность, увеличивающих ТФ-зависимую активность, увеличивающих коагулянтную активность, изменяющих конформацию полипептида для изменения зимогенности, увеличивающих каталитическую или коагулянтную активность, сдвигающих равновесие между высокоактивной и менее активной конформациями FVIIa в пользу высокоактивной конформации, повышающих устойчивость к протеазам, уменьшающих гликозилирование, увеличивающих гликозилирование, снижающих иммуногенность, повышающих стабильность и/или способствующих связыванию химических групп. В некоторых примерах измененная зимогенность относится к более зимогенподобной форме или менее зимогенподобной форме.

В некоторых примерах модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, содержат одну или несколько других модификаций аминокислот, выбранных из

S279C/V302C, L280C/N301C, V281C/V302C,

S282C/V299C, вставки тирозина в положение 4, F4S, F4T, P10Q, P10E, P10D, P10N,

Q21N, R28F, R28E, I30C, I30D, I30E, K32D, K32Q, K32E, K32G, K32H, K32T, K32C,

K32A, K32S, D33C, D33F, D33E, D33K, A34C, A34E, A34D, A34I, A34L, A34M, A34V, A34F, A34W, A34Y, R36D, R36E, T37C, T37D, T37E, K38C, K38E, K38T, K38D, K38L, K38G, K38A, K38S, K38N, K38H, L39E, L39Q, L39H, W41N, W41C, W41E, W41D, I42R, I42N, I42S, I42A, I42Q, I42N, I42S, I42A, I42Q, I42K, S43Q, S43N, Y44K, Y44C, Y44D, Y44E, S45C, S45D, S45E, D46C, A51N, S53N, G58N, G59S, G59T, K62E, K62R, K62D, K62N, K62Q, K62T, L65Q, L65S, L65N, F71D, F71Y, F71E, F71Q, F71N, P74S, P74A, A75E, A75D, E77A, E82Q, E82N, E82S, E82T T83K, N95S, N95T, G97S, G97T, YlOlN, D104N, T106N, K109N, El16D, Gl17N, G124N, S126N, T128N, L141C, L141D, L141E, E142D, E142C, K143C, K143D, K143E, R144E, R144C, R144D, N145Y, N145G, N145F, N145M, N145S, N145I, N145L, N145T, N145V, N145P, N145K, N145H, N145Q, N145E, N145R, N145W, N145D, N145C, K157V, K157L, K157I, K157M, K157F, K157W, K157P, K157G, K157S, K157T, K157C, K157Y, K157N, K157E, K157R, K157H, K157D, K157Q, V158L, V158I, V158M, V158F, V158W, V158P, V158G, V158S, V158T, V158C, V158Y, V158N, V158E, V158R, V158K, V158H, V158D, V158Q, A175S, A175T, G179N, 1186S5 1186T, V188N, R202S, R202T, I205S, I205T, D212N , E220N, I230N, P231N, P236N, G237N, Q250C, V253N, E265N, T267N, E270N, A274M, A274L, A274K, A274R, A274D, A274V, A274I, A274F, A274W, A274P, A274G, A274T, A274C, A274Y, A274N , A274E, A274H, A274S, A274Q, F275H, R277N, F278S, F278A. F278N, F278Q, F278G, L280N, L288K, L288C, L288D, D289C, D289K, L288E, R290C, R290G, R290A, R290S, R290T, R290K, R290D, R290E, G291E, G291D, G291C, G291N, G291K, A292C, A292K, A292D, A292E, T293K, E296V, E296L, E296I, E296M, E296F, E296W, E296P, E296G, E296S, E296T, E296C, E296Y, E296N, E296K, E296R, E296H, E296D, E296Q, M298Q, M298V, M298L, M298I, M298F, M298W, M298P, M298G, M298S, M298T, M298C, M298Y, M298N, M298K, M298R, M298H, M298E, M298D, P303S, P303T, R304Y, R304F, R304L, R304M, R304G, R304T, R304A, R304S, R304N, L305V, L305Y, L305I, L305F, L305A, L305M, L305W, L305P, L305G, L305S, L305T, L305C, L305N, L305E, L305K, L305R, L3O5H, L305D, L305Q, M306D, M306N, D309S, D309T, Q312N, Q313K, Q313D, Q313E, S314A, S314V, S314I, S314M, S314F, S314W, S314P, S314G, S314L, S314T, S314C, S314Y, S314N, S314E, S314K, S314R, S314H, S314D, S314Q, R315K, R315G, R315A, R315S, R315T, R315Q, R315C, R315D, R315E, K316D, K316C, K316E, V317C, V317K, V317D, V317E, G318N, N322Y, N322G, N322F, N322M, N322S, N322I, N322L, N322T, N322V, N322P, N322K, N322H, N322Q, N322E, N322R, N322W, N322C, G331N, Y332S, Y332A, Y332N, Y332Q, Y332G, D334G, D334E, D334A, D334V, D334I, D334M, D334F, D334W, D334P, D334L, D334T, D334C, D334Y, D334N, D334K, D334R, D334H, D334S,

D334Q, S336G, S336E, S336A, S336V, S336I, S336M, S336F, S336W, S336P, S336L, S336T, S336C, S336Y, S336N, S336K, S336R, S336H, S336D, S336Q, K337L, K337V, K337I, K337M, K337F, K337W, K337P, K337G, K337S, K337T, K337C, K337Y, K337N, K337E, K337R, K337H, K337D, K337Q, K341E, K341Q, K341G, K341T, K341A, K341S, G342N, H348N, R353N, Y357N, I361N, F374P, F374A, F374V, F374I, F374L, F374M, F374W, F374G, F374S, F374T, F374C, F374Y, F374N, F374E, F374K, F374R, F374H, F374D, F374Q, V376N, R379N, L390C, L390K, L390D, L390E, M391D, M391C, M391K, M391N, M391E, R392C, R392D, R392E, S393D, S393C, S393K, S393E, E394K, P395K, E394C, P395D, P395C, P395E, R396K, R396C, R396D, R396E, P397D, P397K, P397C, P397E, G398K, G398C, G398D, G398E, V399C, V399D, V399K, V399E, L400K, L401K, L401C, L401D, L401E, R402D, R402C, R402K, R402E, A403K, A403C, A403D, A403E, P404E, P404D, P404C, P404K, F405K, P406C, K32N/A34S, K32N/A34T, F31N/D33S, F31N/D33T, I30N/K32S, I30N/K32T, A34N/R36S, A34N/R36T, K38N/F40S, K38N/F40T, T37N/L39S, T37N/L39T, R36N/K38S, R36N/K38T, L39N/W41S, L39N/W41T, F40N/I42S, F40N/I42T, I42N/Y44S, I42N/Y44T, Y44N/D46S, Y44N/D46T, D46N/D48S, D46N/D48T, G47N/Q49S, G47N/Q49T, K143N/N145S, K143N/N145T, E142N/R144S, E142N/R144T, L141N/K143S, L141N/K143T, I140N/E142S, I140N/E142T, R144N/A146S, R144N/A146T, A146N/K148S, A146N/K148T, S147N/P149S/, S147N/P149T, R290N/A292S, R290N/A292T, D289N/G291S, D289N/G291T, L288N/R290S, L288N/R290T, L287N/D289S, L287N/D289T, A292N/A294S, A292N/A294T, T293N/L295S, T293N/L295T, R315N/V317S, R315N/V317T, S314N/K316S, S314N/K316T, Q313N/R315S, Q313N/R315T, K316N/G318S, K316N/G318T, V317N/D319S, V317N/D319T, K341N/D343S, K341N/D343T, S339N/K341S, S339N/K341T, D343N/G345S, D343N/G345T, R392N/E394S, R392N/E394T, L390N/R392S, L390N/R392T, K389N/M391S, K389N/M391T, S393N/P395S, S393N/P395T, E394N/R396S, E394N/R396T, P395N/P397S, P395N/P397T, R396N/G398S, R396N/G398T, P397N/V399S, P397N/V399T, G398N/L400S, G398N/L400T, V399N/L401S, V399N/L401T, L400N/R402S, L400N/R402T, L401N/A403S, L401N/A403T, R402N/P404S, R402N/P404T, A403N/F405S, A403N/F405T, P404N/P406S и P404N/P406T.

В некоторых примерах модифицированные полипептиды FVII также содержат замещение позиций 300-322, 305-322, 300-312 или 305-312 соответствующими аминокислотами трипсина, тромбина или FX или содержат замещение позиций 310-329, 311-322 или 233-329 соответствующими аминокислотами трипсина.

Примеры модифицированных полипептидов FVII, предусмотренных в настоящем документе, имеют последовательности аминокислот, приведенные в любой из SEQ ID NO: 113-273. В некоторых примерах модификации вводят в немодифицированный полипептид FVII, который представляет собой аллельный или видовой вариант полипептида, приведенного в SEQ ID NO: 3. Аллельный, или видовой, или другой вариант может обладать 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентичности последовательности с полипептидом, приведенном в SEQ ID NO: 3, исключая модификацию аминокислоты (аминокислот). Модифицированный полипептид FVII, предусмотренный в настоящем документе, может представлять собой человеческий полипептид, не человеческий полипептид и/или зрелый полипептид. В некоторых примерах модифицирована только первичная последовательность. В других примерах также включены химическая модификация или пост-трансляционные модификации. Например, модифицированный полипептид FVII может быть гликозилирован, карбоксилирован, гидроксилирован, сульфатирован, фосфорилирован, альбуминирован или конъюгирован с полиэтиленгликольным (ПЭГ) фрагментом.

Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут представлять собой одноцепочечные полипептиды, двухцепочечные полипептиды и/или быть активными или активированными. Активация может быть осуществлена протеолитическим расщеплением в процессе самоактивации, расщеплением фактором IX (FIX), расщеплением фактором X (FXa), расщеплением фактором XII (FXIIa) или расщеплением тромбином.

Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут сохранить

один или более видов активности немодифицированного полипептида FVII. Например, модифицированные полипептиды FVII могут содержать модификации в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50 или в 60 аминокислотных позициях, пока полипептид сохраняет по меньшей мере одну активность немодифицированного полипептида FVII. Такие модифицированные полипептиды FVII могут сохранять по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% или более активности немодифицированного полипептида FVII. В некоторых примерах один или более видов активности выбраны из связывания тканевого фактора (ТФ), активации фактора X (FX), активации фактора IX (FIX), связывания фосфолипидов и коагулянтной активности. Кроме того, сохраненные активности могут быть увеличены или уменьшены по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. В некоторых примерах коагулянтная активность увеличена по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII, например увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с коагулянтной активностью немодифицированного полипептида FVII. Активность может быть измерена in vitro, ex vivo или in vivo.

В настоящем документе предусмотрены молекулы нуклеиновой кислоты, содержащие последовательность нуклеотидов, кодирующую модифицированные полипептиды FVII по изобретению. Также предусмотрены векторы, содержащие такие молекулы нуклеиновой кислоты, в том числе прокариотические векторы, вирусные векторы или эукариотические векторы, такие как векторы млекопитающих. Вирусные векторы могут быть выбраны из аденовируса, адено-ассоциированного вируса, ретровируса, вируса герпеса, лентивируса, поксвируса и цитомегаловируса. В настоящем документе предусмотрены клетки, содержащие эти векторы, в том числе эукариотические клетки, такие как клетки млекопитающих. Примером клеток млекопитающих являются клетки почки детеныша хомяка (ВНК-21), клетки 293 или клетки СНО. В некоторых примерах клетки экспрессируют модифицированный полипептид FVII. Таким образом, в настоящем документе также предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, продуцируемые этими клетками.

В настоящем документе предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие терапевтически эффективную концентрацию или количество любого модифицированного полипептида FVII, молекулы нуклеиновой кислоты, вектора или клеток, предусмотренных в настоящем документе, в фармацевтически приемлемом носителе. В некоторых примерах фармацевтическая композиция составлена для локального, системного или местного введения, такого как оральное, носовое, легочное, буккальное, трансдермальное, подкожное, интрадуоденальное, энтеральное, парентеральное, внутривенное или внутримышечное введение. Фармацевтические композиции также могут быть составлены для контролируемого высвобождения и/или введения одной дозой.

В настоящем документе предусмотрены способы лечения введением субъекту предусмотренной в настоящем документе фармацевтической композиции, где субъект страдает заболеванием или состоянием, которое поддается лечению введением FVII или прокоагулянта, например введением активного FVII (FVIIa). В некоторых примерах лечение фармацевтической композицией улучшает или смягчает симптомы, связанные с заболеванием или состоянием. В других примерах способы лечения, предусмотренные в настоящем документе, также включают наблюдение за изменением у субъекта симптомов, связанных с заболеванием или состоянием, которое подвергается лечению введением FVII или прокоагулянта. Заболевания или состояния, подвергающиеся лечению по способам, предусмотренным здесь, могут быть выбраны из нарушений свертывания крови, гематологических нарушений, геморрагических расстройств, гемофилий (таких как гемофилия А, гемофилия В или гемофилия С, врожденная или приобретенная гемофилия), дефицита фактора VII и нарушений, связанных с кровотечением, в том числе кровотечением, вызванным операцией (такой как операция на сердце, ангиопластика, операция на легких, абдоминальная операция, операция на позвоночнике, операция на головном мозге, операция на сосудах, стоматологическая операция или трансплантация органов) или травмой. В некоторых примерах, кровотечение проявляется в виде острых гемартрозов, хронической гемофильной артропатии, гематомы, гематурии, кровотечения в центральной нервной системе, желудочно-кишечного кровотечения или кровоизлияния в мозг. В дополнительных примерах кровотечение происходит из-за удаления зубов. Трансплантационная хирургия может представлять собой трансплантацию костного мозга, сердца, легких, поджелудочной железы и печени.

В некоторых примерах предусмотренный здесь способ лечения может быть использован для лечения субъекта, который вырабатывает аутоантитела к фактору VIII или фактору IX. Способы, предусмотренные здесь, также могут включать введение одного или нескольких дополнительных факторов свертывания крови, таких как очищенные из плазмы или рекомбинантные факторы свертывания, прокоагулянтов, включая витамин К, производные витамина К и ингибиторы белка С, плазмы, тромбоцитов, эритроцитов и кортикостероидов или лекарственных средств.

В настоящем документе предусмотрены изделия, содержащие упаковочный материал и фармацевтическую композицию, предусмотренную в настоящем документе, помещенную в упаковочный материал. В некоторых примерах модифицированные полипептиды FVII, содержащиеся в фармацевтической композиции, эффективны для лечения связанного с FVII заболевания или нарушения, а упаковочный

материал включает этикетку, указывающую, что модифицированные полипептиды FVII используют для лечения связанного с FVII заболевания или нарушения. Кроме того, в настоящем документе предусмотрены комплекты, включающие описанную здесь фармацевтическую композицию, устройство для введения композиции и, при необходимости, инструкции для введения.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 представлен каскад свертывания крови. Показаны внутренний и внешний пути свертывания, приводящие к независимому образованию FXa, и схождение путей в общей путь для образования тромбина и фибрина с образованием сгустка. Эти пути взаимосвязаны. На чертеже изображен порядок молекул, участвующих в активации каскада, в котором зимоген преобразуется в активированную протеазу путем расщепления одной или нескольких пептидных связей. Активированная протеаза затем служит активирующей протеазой для следующей молекулы зимогена в каскаде, что, в конечном счете, приводит к образованию сгустка.

На фиг. 2 приведена клеточная модель свертывания (см., например, Hoffman и др., (2001) Thromb Haemost 85:958-965). Изображены акты коагуляции, разделенные на три этапа, где начало коагуляции осуществляется путем активации FX с образованием FXa под действием ТФ/FVIIa комплекса на несущей ТФ клетке, в результате чего образуется небольшое количество тромбина в результате активации FXa/FVa комплексом. Усиление каскада происходит при связывании тромбина с тромбоцитами и их активации, что инициирует активацию достаточного количества соответствующих факторов свертывания крови для образования FVIIIa/FIX и FVa/FXa комплексов. Распространение коагуляции происходит на поверхности большого количества активированных тромбоцитов в месте повреждения, что приводит к быстрому увеличению количества тромбина, образующего достаточное количество фибрина из фибриногена для формирования сгустка в месте повреждения.

На фиг. 3 приведены механизмы, посредством которых FVIIa могут инициировать образование тромбина. Фиг. 3 иллюстрирует ТФ-зависимый путь образования тромбина фактором FVIIa, который действует на поверхности ТФ-несущей клетки и включает образование комплекса FVIIa с ТФ для активации FX с образованием FXa. На фигуре также показаны ТФ-независимые пути образования тромбина фактором FVIIa, в ходе которых FVIIa связывается с фосфолипидами на поверхности активированных тромбоцитов и активирует FX в FXa, который, в свою очередь, образует комплекс с FVa и расщепляет протромбин с образованием тромбина.

Подробное раскрытие изобретения

Последовательность изложения.

A. Определения

B. Обзор гемостаза

1. Адгезия и агрегация тромбоцитов

2. Свертывание

a. Инициация

b. Усиление

c. Распространение

3. Регуляция свертывания

C. Фактор VII (FVII)

1. Структура и организации FVII

2. Пост-трансляционные модификации

3. Процессинг FVII

4. Активация FVII

5. Функции FVII

a. Зависимая от тканевого фактора активность FVIIa

b. Не зависимая от тканевого фактора активность FVIIa

6. FVII как лекарственное средство

D. Модифицированные полипептиды FVII

1. Увеличение каталитической активности

a. Примеры изменений для увеличения каталитической активности

I. Основные аминокислотные замены в положении 286.

II. Другие мутации в положении 286.

2. Повышенная устойчивость к AT-III. Примеры модификаций для достижения повышенной устойчивости к AT-III.

3. Повышенная устойчивость к ингибированию Zn^{2+}. Примеры модификаций для повышения устойчивости к ингибированию Zn^{2+}.

4. Изменение гликозилирования. Примеры модификаций для изменения гликозилирования.

5. Увеличение связывания сывороточного альбумина и/или интегрина тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$.

a. Примеры полипептидов FVII со связывающей сывороточный альбумин последовательностью.

b. Примеры полипептидов FVII со связывающей интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательностью

6. Модификация введением гетерологичного домена Gla
7. Дополнительные модификации и их комбинации
a. Модификации, которые повышают устойчивость к TFPI
b. Модификации, которые увеличивают собственную активность
c. Модификации, которые повышают устойчивость к протеазам
d. Модификации, которые повышают аффинность к фосфолипидам
e. Модификации, которые изменяют гликозилирование
f. Модификации, которые облегчают связывание химических групп
g. Примеры сочетания мутаций
E. Получение полипептидов FVII
1. Векторы и клетки
2. Системы экспрессии
a. Прокариотические системы экспрессии
b. Дрожжи
c. Насекомые и клетки насекомых
d. Клетки млекопитающих
e. Растения
2. Очистка
3. Гибридные белки
4. Модификации полипептидов
5. Нуклеотидные последовательности
F. Оценка активности модифицированных полипептидов FVII
l. In vitro тесты
a. Пост-трансляционные модификации
b. Протеолитическая активность
c. Коагулянтная активность
d. Связывание с другими белками и/или ингибирование другими белками
e. Связывание фосфолипидов
2. Не человеческие животные модели
3. Клинические анализы
G. Композиции и введение
1. Композиции
a. Дозировки
b. Лекарственные формы
2. Введение модифицированных полипептидов FVII
3. Введение нуклеиновой кислоты, кодирующей модифицированные полипептиды FVII (генная терапия)
H. Терапевтическое применение
1. Врожденные связанные с кровоточивостью нарушения
a. Гемофилии
b. дефицит FVII
c. другие
2. Приобретенные нарушения свертываемости крови
a. приобретенная в результате химиотерапии тромбоцитопения
b. другие коагулопатии
c. кровотечение вследствие трансплантации
d. кровотечение вследствие антикоагулянтной терапии
e. приобретенная гемофилия
3. Кровотечения вследствие травмы и хирургического вмешательства
I. Комбинированная терапия
J. Изделия и комплекты
K. Примеры
A. Определения.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые здесь, имеют тот же смысл, как это обычно понимается специалистом в области техники, к которой относится изобретение. Если не указано иное, все патенты, заявки, опубликованные заявки и публикации, последовательности Genbank, базы данных, веб-сайты и другие опубликованные материалы, упомянутые в настоящем документе, приведены в качестве ссылки в полном объеме. Если для упоминаемого в настоящем документе термина существует множество определений, предпочтительно приведенное в этом разделе определение. В случае приведения ссылки на URL или другого подобного идентификатора или адреса понимается, что идентификатор может изменяться и информация в сети Интернет может появляться и исчезать, но аналогичную информацию можно найти в сети Интернет. Подобная ссылка свидетельствует о наличии ин-

формации и открытом доступе. В настоящем документе термины "путь свертывания" или "свертывание" относятся к серии актов активации, которые приводят к образованию нерастворимого сгустка фибрина. В каскаде или пути свертывания неактивные сериновые протеазы (также называемые зимогенами) превращаются в активные протеазы путем расщепления одной или нескольких пептидных связей, указанные протеазы затем служат для активации следующей молекулы протеазы в каскаде. На конечном этапе протеолитического каскада фибриноген протеолитически расщепляется тромбином с образованием фибрина, который затем сшивается в месте повреждения и формирует сгусток. В настоящем документе термин "гемостаз" относится к остановке кровотечения или притока крови в орган или часть тела. Термин гемостаз может охватывать весь процесс свертывания крови для предотвращения потери крови после повреждения кровеносного сосуда и последующее растворение тромба после восстановления тканей.

В настоящем документе термины "коагуляция" или "свертывание" относятся к образованию нерастворимых сгустков фибрина или к процессу, посредством которого факторы свертывания крови взаимодействуют в каскаде свертывания, что, в конечном счете, приводит к образованию нерастворимых сгустков фибрина.

"Протеаза" представляет собой фермент, который катализирует гидролиз ковалентной пептидной связи. Этот термин включает зимогенную форму и активированные одноцепочечную и двухцепочечную формы протеаз. Упоминание протеазы относится ко всем формам. В зависимости от каталитической активности их активного центра и механизма расщепления пептидных связей в целевом субстрате протеазы включают, например, сериновые протеазы, цистеиновые протеазы, аспарагиновые протеазы, треониновые протеазы и металлопротеазы. В настоящем документе сериновые протеазы или сериновые эндопептидазы относятся к классу пептидаз, которые характеризуются наличием остатка серина в активном центре фермента. Сериновые протеазы участвуют в широком спектре функций в организме, в том числе в свертывании крови и воспалении, а также функционируют в качестве пищеварительных ферментов у прокариот и эукариот. Механизм расщепления связей сериновыми протеазами основан на нуклеофильной атаке целевой пептидной связи серином. Цистеин, треонин или молекула воды, связанная с аспартатом или металлом, также могут играть эту роль. Выровненные боковые цепи серина, гистидина и аспартата формируют каталитическую триаду, общую для большинства сериновых протеаз. Активный центр сериновых протеаз представляет собой расщелину, где связывается полипептидный субстрат.

Рассматриваемый в настоящем документе фактор VII (FVII, F7, также упоминается как фактор 7, фактор свертывания VII, сывороточный фактор VII, сывороточный ускоритель преобразования протромбина, SPCA, проконвертин и эптаког α) относится к сериновым протеазам, которые являются частью каскада свертывания. FVII включает домен Gla, два EGF домена (EGF-1 и EGF-2) и домен сериновой протеазы (или пептидазный домен S1), который высоко консервативен у всех членов семейства пептидазы S1 сериновых протеаз, например химотрипсина. Последовательность примера предшественника FVII с сигнальным пептидом и пропептидом приведена в SEQ ID NO: 1. Пример зрелого полипептида FVII приведен в SEQ ID NO: 3. FVII встречается в одноцепочечной зимогенной, зимогеноподобной двухцепочечной цепи и полностью активированной двухцепочечной форме. Полная активация, которая происходит при конформационном изменении зимогеноподобной формы, происходит при связывании с кофактором фермента, тканевым фактором. Кроме того, могут быть введены мутации, приводящие к конформационным изменениям в отсутствие тканевого фактора. Следовательно, упоминание FVII включает его одноцепочечные и двухцепочечные формы, включая зимогеноподобную и полностью активированную двухцепочечные формы.

При упоминании полипептида FVII также подразумевают полипептиды-предшественники и зрелые полипептиды FVII в одноцепочечной или двухцепочечной форме, их активные усеченные формы, подразумевают аллельные варианты и видовые варианты, варианты, кодируемые вариантами сплайсинга, и другие варианты, в том числе полипептиды по меньшей мере на 40, 45, 50, 55, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99 или более идентичные последовательности предшественника полипептида, приведенной в SEQ ID NO: 1 или последовательности его зрелой формы. Также подразумевают модифицированные полипептиды FVII, такие как приведенные в SEQ ID NO: 113 и 273 и их варианты. Также подразумевают полипептиды, которые сохраняют по меньшей мере одну активность FVII, такую как связывание ТФ, связывание фактора X, связывание фосфолипидов и/или коагулянтная активность FVII. При сохранении активности она может быть изменена, например снижена или повышена по сравнению с FVII дикого типа, пока уровень сохраненной активности достаточен для получения заметного воздействия. Полипептиды FVII включают, но не ограничиваются, тканеспецифическими изоформами и их аллельными вариантами, синтетическими молекулами, полученными трансляцией нуклеиновых кислот, белками, полученными химическим синтезом, таким как синтез, который включает лигирование коротких полипептидов, белками, полученными рекомбинантными методами, белками, выделенными из человеческих и не человеческих тканей и клеток, химерными полипептидами FVII и их модифицированными формами. FVII полипептиды также включают фрагменты или части FVII, которые имеют достаточную длину или включают соответствующие районы для сохранения по меньшей мере одного вида активности (при активации при необходимости) полноразмерного зрелого полипептида. Полипептиды FVII также включают полипептиды с химическими или посттрансляционными модификациями и полипептиды без химических или

посттрансляционных модификаций. Такие модификации включают, но не ограничиваются, пегилированием, альбуминированием, гликозилированием, фарнизилированием, карбоксилированием, гидроксилированием, фосфорилированием и другими известными в уровне техники модификациями полипептидов.

Примеры полипептидов FVII включают полипептиды млекопитающих, включая человека. Примеры аминокислотных последовательностей FVII человеческого происхождения приведены в SEQ ID № 1, 2 и 3. Примеры вариантов таких человеческих полипептидов FVII включают любые полипептиды-предшественники, приведены в SEQ ID NO: 18-74. Полипептиды FVII также включают любые полипептиды не человеческого происхождения, включая, но не ограничиваясь, мышиными, собачьими, кошачьими, заячьими, птичьими, бычьими, бараньими, свиными, лошадиными, рыбьими, лягушачьими полипептидами и полипептидами фактора VII приматов. Примеры FVII полипептидов не человеческого происхождения включают, например, полипептиды коровы (Bos taurus, SEQ ID NO: 4), мыши (Mus musculus, SEQ ID NO: 5), карликового шимпанзе (Panpaniscus, SEQ ID NO: 6), шимпанзе (Pan troglodytes, SEQ ID NO: 7), кролика (Oryctolagus cuniculus, SEQ ID NO: 8), крысы (Rattus norvegicus, SEQ ID NO: 9), резус-макаки (Macaca mulatto, SEQ ID NO: 10), свиньи (Sus scrofa, SEQ ID NO: 11), собаки (Canis familiaris, SEQ ID NO: 12), полосатого данио (Brachydanio rerio, SEQ ID NO: 13), рыбы фугу (Fugu rubripes, SEQ ID NO: 14), курицы (Gallus Gallus , SEQ ID NO: 15), орангутанга (Pongo pygmaeus, SEQ ID NO: 16) и гориллы (Gorilla gorilla, SEQ ID NO: 17).

Специалисту в данной области техники очевидно, что указанные позиции зрелого полипептида фактора VII (SEQ ID NO: 3) отличаются на 60 аминокислотных остатков от позиций изоформы предшественника полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 1, где изоформа полипептида фактора VII содержит сигнальный пептид и пропептидную последовательность. Таким образом, первая аминокислота из SEQ ID NO: 3 соответствует шестьдесят первому (61) аминокислотному остатку из SEQ ID NO: 1. Специалисту в данной области также очевидно, что указанные позиции зрелого полипептида фактора VII (SEQ ID NO: 3) отличаются на 38 аминокислотных остатков от позиций предшественника полипептида FVII, приведенного в SEQ ID NO: 2, который представляет собой изоформу b полипептида фактора VII, содержащую сигнальный пептид и пропептидную последовательность. Таким образом, первый аминокислотный остаток из SEQ ID NO: 3 соответствует тридцать девятому (39) аминокислотному остатку из SEQ ID NO: 2.

В настоящем документе "соответствующие остатки" относятся к остаткам, которые находятся в соответствующих локусах. Близкие полипептиды или варианты полипептидов могут быть выровнены любым способом, известным специалистам в данной области. При таких способах обычно добиваются максимального совпадения, и способы включают выравнивание вручную и выравнивание с помощью многочисленных доступных программ выравнивания (например, BLASTP и другие известные специалистам в данной области программы). По выравниванию последовательностей полипептидов специалист в данной области может определить соответствующие остатки, используя консервативные и идентичные аминокислотные остатки в качестве ориентиров. Например, за счет выравнивания последовательностей полипептидов фактора VII, используя консервативные и идентичные аминокислотные остатки в качестве ориентиров, специалист в данной области может определить соответствующие остатки. Например, аланин в положении 1 (A1) из SEQ ID NO: 3 (зрелый фактор VII) соответствует аланину в положении 61 (A61) из SEQ ID NO: 1 и аланину в положении 39 (A39) из SEQ ID NO: 2. В других случаях могут быть идентифицированы соответствующие районы. Например, домен Gla соответствует аминокислотным позициям с A1 до F45 из SEQ ID NO: 3, аминокислотным позициям с A61 до S105 из SEQ ID NO: 1 и аминокислотным позициям с A39 до S83 из SEQ ID NO: 2. Специалист в данной области также может использовать консервативные аминокислотные остатки в качестве ориентиров для нахождения соответствующих аминокислотных остатков между человеческими и не человеческими последовательностями и среди человеческих и не человеческих последовательностей. Например, аминокислотные остатки с S43 до E163 из SEQ ID NO: 3 (человеческий) соответствуют остаткам с S83 до E203 из SEQ ID NO: 4 (бычий). Нахождение соответствующих позиций также может быть основано на структурном выравнивании, например компьютерном выравнивании, структуры белка. В других случаях могут быть идентифицированы соответствующие районы. В настоящем документе термины "прорайон", "пропептид" или "пропоследовательность" относятся к домену или сегменту, которые расщепляются с образованием зрелого белка. Они могут включать сегменты, функционирующие для подавления протеолитической активности, маскирующие каталитический центр и, таким образом, предотвращающие образование каталитического интермедиата (т.е. пространственно блокирующие сайт связывания субстрата). Прорайон представляет собой аминокислотную последовательность, расположенную на N-конце зрелого биологически активного полипептида, и может состоять всего лишь из нескольких аминокислот или представлять собой многодоменную структуру.

В настоящем документе термин "зрелый фактор VII" относится к полипептиду FVII, у которого отсутствует сигнальная последовательность и пропептидная последовательность. Как правило, сигнальная последовательность направляет белок для секреции через эндоплазматический ретикулум (ЭР) и через аппарат Гольджи и отщепляется после прохождения в ЭР в процессе трансляции. Пропептидная последовательность функционирует при посттрансляционной модификации белка и отщепляется до секреции

белка из клетки. Таким образом, зрелый белок FVII представляет собой секретируемый белок. В одном примере зрелый человеческий полипептид FVII приведен в SEQ ID NO: 3. Приведенная в SEQ ID NO: 3 аминокислотная последовательность отличается от последовательностей полипептидов-предшественников, приведенных в SEQ ID NOS: 1 и 2, в последовательности SEQ ID NO: 3 отсутствует сигнальная последовательность, которая соответствует остаткам 1-20 в SEQ ID NOS: 1 и 2; и отсутствует пропептидная последовательность, соответствующая аминокислотным остаткам 21-60 в SEQ ID NO: 1 и аминокислотным остаткам 21-38 в SEQ ID NO: 2. Упоминание зрелого полипептида FVII относится к одноцепочечной зимогенной форме и двухцепочеченой форме.

В настоящем документе термины "белок дикого типа" или "нативный белок" по отношению к полипептиду FVII обозначают полипептид FVII, кодируемый нативным или встречающимся в естественных условиях геном, включая аллельные варианты, присутствующие в организме, таком как человек или другие животные. Упоминание фактора VII дикого типа без упоминания вида относится к факторам VII дикого типа любого вида. Полипептиды FVII дикого типа включают полипептиды-предшественники, их фрагменты и процессированные формы, включая полипептиды без сигнального пептида, а также любые их пре- или посттрансляционно процессированные формы. Полипептиды FVII дикого типа также включают посттрансляционно модифицированные полипептиды, включая, но не ограничиваясь гликозилированными, карбоксилированными и гидроксилированными полипептидами. Нативные полипептиды FVII также включают одноцепочечные и двухцепочечные формы. Например, у людей экспрессируется нативный FVII. Примеры аминокислотной последовательности человеческого FVII дикого типа приведены в SEQ ID NOS: 1, 2 и 3, а аллельные варианты и их зрелые формы приведены в SEQ ID NOS: 44-100. Другие животные также производят нативный FVII, включая, но не ограничиваясь, коровой (Bos taurus, SEQ ID NO: 4), мышью (Mus musculus, SEQ ID NO: 5), карликовым шимпанзе (Panpaniscus, SEQ ID NO: 6), шимпанзе (Pan troglodytes, SEQ ID NO: 7), кроликом (Oryctolagus cuniculus, SEQ ID NO: 8), крысой (Rattus norvegicus, SEQ ID NO: 9), резус-макакой (Macaca mulatto, SEQ ID NO: 10), свиньей (Sus scrofa, SEQ ID NO: 11), собакой (Canis familiaris, SEQ ID NO: 12), полосатым данио (Brachydanio rerio, SEQ ID NO: 13), рыбой фугу (Fugu rabripes, SEQ ID NO: 14), курицей (Gallus Gallus, SEQ ID NO: 15), орангутангом (Pongo pygmaeus, SEQ ID NO: 16) и гориллой (Gorilla gorilla, SEQ ID NO: 17).

В настоящем документе "видовые варианты" относятся к вариантам полипептидов среди различных видов, в том числе различных видов млекопитающих, таких как мышь и человек. В настоящем документе аллельные варианты относятся к изменениям в белках среди представителей одного и того же вида. В настоящем документе варианты сплайсинга относятся к вариантам, образованным в результате различного процессинга первичного транскрипта геномной ДНК, что приводит к более чем одному типу мРНК.

В настоящем документе термин "зимоген" относится к протеазам, которые активируются посредством протеолитического расщепления, в том числе расщепления, приводящего к созреванию, такого как активационное расщепление, и/или посредством образования комплекса с другим белком(белками) и/или кофактором(кофакторами). Зимоген является неактивным предшественником протеолитических ферментов. Такие предшественники, обычно, хотя и не обязательно, обладают большим размером, чем активная форма белка. Зимогены сериновых протеаз преобразуются в активные ферменты путем специфического расщепления, в том числе каталитического и автокаталитического расщепления, или путем связывания активирующего кофактора, которое приводит к активному ферменту. Как правило, зимогены присутствуют в одноцепочечной форме. Зимогены, как правило, являются неактивными и могут быть преобразованы в зрелый активный полипептид каталитическим или автокаталитическим расщеплением по одному или нескольким протеолитическим сайтам с образованием мультицепочечного, такого как двухцепочечный, полипептида. Зимоген, таким образом, представляет собой ферментативно неактивный белок, который преобразуется в протеолитический фермент под действием активатора. Расщепление может быть осуществлено посредством самоактивации. Множество белков свертывания представляют себя зимогены, они неактивны, но расщепляются и активируются при инициировании системы свертывания после повреждения сосуда. Полипептиды FVII существуют в плазме крови в виде зимогенов до расщепления протеазами, такими как, например, активированный фактор IX (FIX), активированный фактор X (FXa), активированный фактор XII (FXIIa), тромбин, или до самоактивации с образованием зимогеноподобной двухцепочечной формы, которая затем требует дальнейшего изменения конформации для полноценной активности.

В настоящем документе "зимогеноподобный" белок или полипептид относится к белку, который был активирован протеолитическим расщеплением, но еще обладает свойствами, которые связывают белок с зимогеном, такими как, например, низкая или нулевая активность или конформация, которая напоминает конформацию зимогенной формы белка. Например, при отсутствии связи с тканевым фактором двухцепочечная активированная форма FVII является зимогеноподобным белком, она сохраняет похожую на нерасщепленный зимоген FVII конформацию и поэтому обладает очень низкой активностью. При связывании с тканевым фактором двухцепочечная активированная форма FVII претерпевает конформационные изменения и приобретает свою полную активность фактора свертывания.

В настоящем документе "активационная последовательность" относится к аминокислотной последовательности зимогена, которая представляет собой сайт, необходимый для активационного расщепле-

ния или расщепления для созревания с образованием активной протеазы. Расщепление активационной последовательности может быть автокаталитическим или катализироваться активирующим партнером.

В настоящем документе "активационное расщепление" является одним из видов расщепления для созревания, которое вызывает изменение конформации, необходимое для проявления полной ферментативной активности. Это классический путь активации, например, для сериновых протеаз, в которых расщепление приводит к появлению нового N-конца, взаимодействующего с консервативным районом протеазы, таким как Asp194 в химотрипсине, что вызывает конформационные изменения, необходимые для проявления активности. Активация может привести к образованию мультицепочечной формы протеазы. В некоторых случаях одноцепочечная форма протеазы может проявлять протеолитическую активность.

Используемый в настоящем документе термин "активированный фактор VII" или "FVIIa" относится к любой двухцепочечной форме полипептида FVII. Двухцепочечная форма обычно является результатом протеолитического расщепления, но может быть получена синтетическим путем. Активированный фактор VII, таким образом, включает зимогеноподобную двухцепочечную форму с низкой коагулянтной активностью, полностью активированную форму (с приблизительно в 1000 раз большей активностью), которая образуется при связывании с тканевым фактором, и мутированные формы, которые существуют в полностью активированной двухцепочечной форме или проходят конформационные изменения с образованием полностью активированной формы. Например, одноцепочечная форма полипептида FVII (см., например, SEQ ID NO: 3) претерпевает протеолитическое расщепление между аминокислотными остатками R152 и I153 зрелого полипептида FVII. Продукты расщепления, тяжелая цепь FVII и легкая цепь FVII, которые удерживаются вместе дисульфидной связью (между аминокислотными остатками C135 и C262 в FVII из SEQ ID NO: 3), образуют двухцепочечный активированный FVII фермент. Протеолитическое расщепление может быть осуществлено, например, активированным фактором IX (FIX), активированным фактором X (FXa), активированным фактором XII (FXIIa), тромбином или путем самоактивации.

В настоящем документе "свойство" полипептида FVII относится к физическим или структурным свойствам, таким как трехмерная структура, pI, период полураспада, конформация и другие подобные физические характеристики.

В настоящем документе "активность" полипептида FVII относится к любой активности, проявляемой полипептидом фактора VII. Такие активности могут быть исследованы in vitro и/или in vivo и включают, но не ограничиваются, свертывание или коагулянтную активность, прокоагулянтную активность, протеолитическую или каталитическую активность, такую как активация фактора X (FX) или активация фактора IX (FIX), антигенность (способность связываться с анти-FVII антителом или конкурировать с полипептидом за связывание с анти-FVII антителом), способность связывать тканевый фактор, фактор X или фактор IX и/или способность связываться с фосфолипидами. Активность может быть оценена in vitro или in vivo с использованием признанных тестов, например путем измерения свертывания in vitro или in vivo. Результаты таких анализов показывают, что полипептид проявляет активность, которая может коррелировать с активностью полипептида in vivo, где in vivo активность может быть оценена как биологическая активность. Анализы для определения функциональности или активности модифицированной формы FVII известны специалистам в данной области. Примеры тестов для оценки активности полипептида FVII включают анализ на тромбопластиновое время (ТВ), или анализ на активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) для оценки коагулянтной активности, или анализы с использованием хромогенных синтетических субстратов, как описано в примерах ниже, для оценки каталитической или протеолитической активности.

В настоящем документе выражение "проявление по меньшей мере одного вида активности" или "сохранение по меньшей мере одного вида активности" относится к активности модифицированного полипептида FVII по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII того же вида и в тех же условиях. Например, модифицированный полипептид FVII в двухцепочечной форме сравнивают с немодифицированным полипептидом FVII в двухцепочечной форме в одинаковых экспериментальных условиях, где различием между двумя полипептидами является только модификация исследуемого полипептида. В качестве другого примера модифицированный полипептид FVII в одноцепочечной форме сравнивают с немодифицированным полипептидом FVII в одноцепочечной форме в одинаковых экспериментальных условиях, где различием между двумя полипептидами является только модификация исследуемого полипептида. Как правило, модифицированный полипептид FVII, который сохраняет и проявляет по меньшей мере один вид активности немодифицированного полипептида FVII в такой же форме, сохраняет активность в достаточной степени, поэтому при введении in vivo модифицированный полипептид FVII терапевтически эффективен в качестве прокоагулянтного лекарственного средства. В большинстве случаев для проявления терапевтической эффективности в качестве прокоагулянта модифицированный полипептид FVII должен сохранить приблизительно 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более от активности немодифицированного полипептида FVII в той же форме, который проявляет терапевтическую эффективность как прокоагулянт. Активность, которая необходима для поддержания терапевтической эффективности в качестве прокоагулянта, может быть определена эмпирически, если это необходимо. Как правило, сохранение от 0,5 до 20%, от 0,5 до 10%, от 0,5 до 5% активности достаточно для сохранения терапевтической

эффективности в качестве прокоагулянта in vivo.

Подразумевается, что проявляемая или сохраненная модифицированным полипептидом FVII активность может представлять собой любую активность, включая, но не ограничиваясь коагуляцией или коагулянтной активностью, прокоагулянтной активностью; протеолитической или каталитической активностью, такой как активация фактора X (FX) или активация фактора IX (FIX); антигенностью (способностью связываться с анти-FVII антителом или конкурировать с полипептидом за связывание с анти-FVII антителом); способностью связывать тканевый фактор, фактор X или фактор IX; и/или способностью связываться с фосфолипидами. В некоторых случаях модифицированный полипептид FVII может сохранять активность FVII, при этом активность увеличена по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. В некоторых случаях модифицированный полипептид FVII может сохранять активность, при этом активность снижена по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Активность модифицированного полипептида FVII может составлять любой процент от активности немодифицированного полипептида, включая, но не ограничиваясь, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% или более от активности немодифицированного полипептида, где оба полипептида представлены в одной форме. Например, модифицированный полипептид FVII может обладать повышенной или пониженной активностью по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII в той же форме. Например, он может сохранить по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98% или по меньшей мере 99% от активности немодифицированного полипептида FVII. В других вариантах активность увеличена по меньшей мере приблизительно в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 раз или более по сравнению с немодифицированным FVII. Конкретный уровень сохраненной активности зависит от предполагаемого использования полипептида и может быть определен эмпирически. Активность может быть измерена, например, с использованием in vitro или in vivo анализов, таких как анализы, описанные здесь или в примерах ниже.

В настоящем документе "активность свертывания", "коагулянтная активность" или "прокоагулянтная активность" относятся к способности полипептида вызывать коагуляцию. Анализы для оценки коагулянтной активности известны специалистам в данной области и включают анализ на протромбиновое время (ПВ) или анализ на активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ).

В настоящем документе термины "каталитическая активность" или "протеолитическая активность" со ссылкой на FVII относятся к способности белка FVII катализировать протеолитическое расщепление субстрата и являются взаимозаменяемыми. Анализы для оценки такой активности известны в данной области техники. Например, протеолитическая активность FVII может быть измерена с помощью хромогенных субстратов, таких как субстрат Spectrozyme FVIIa (CH_3SO_2-D-CHA-But-Arg-pNA), где за расщеплением субстрата следят по оптическому поглощению и скорость гидролиза субстрата определяют с помощью линейной регрессии.

В настоящем документе термин "собственная активность" со ссылкой на FVII относится к каталитической, протеолитической и/или коагулянтной активности белка FVII в отсутствие тканевого фактора.

В настоящем документе термин "домен" (представляет собой последовательность из трех или более, как правило 5, 7 и более аминокислот) относится к части молекулы, такой как белок или кодирующая нуклеиновая кислота, которая структурно и/или функционально отличается от других частей молекулы и является идентифицируемой. Например, домены включают те участки полипептидной цепи, которые способны самостоятельно формировать складчатую структуру в белке, состоящую из одного или нескольких структурных мотивов и/или распознаваемую по функциональной активности, такой как протеолитическая активность. Белок может иметь один или несколько различных доменов. Например, домен может быть идентифицирован, определен или различен по гомологии последовательности в близких членах семейства, такой как гомология с мотивами, которые определяют протеазный домен или Gla домен. В другом примере домен можно отличить по его функции, например по протеолитической активности или способности взаимодействовать с биомолекулами, например, по связыванию ДНК, связыванию лиганда и димеризации. Домен самостоятельно может проявлять биологическую функцию или активность, так что домен самостоятельно или при слиянии с другой молекулой может проявлять активность, такую как, например, протеолитическая активность или способность связывать лиганд. Домен может представлять собой линейную последовательность аминокислот или не линейную последовательность аминокислот. Многие полипептиды содержат множество доменов. Такие домены известны и могут быть идентифицированы специалистами в данной области. Для иллюстративных целей в настоящем документе приводятся определения, но подразумевается, что специалист в данной области может распознать конкретный домен по названию. Если необходимо, для выявления доменов может быть использовано соответствующее программное обеспечение.

В настоящем документе "протеазный домен" представляет собой каталитически активную часть протеазы. Упоминание протеазного домена протеазы подразумевает одно-, двух- и мультицепочечные формы любого из белков по настоящему изобретению. Протеазный домен белка содержит все необходимые свойства для проявления его протеолитической активности, такие как, например, каталитический центр. Протеазный домен FVII обладает гомологией и структурным сходством с протеазными доменами

белков семейства химотрипсина/трипсина, включая каталитическую триаду. Например, в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, протеазный домен соответствует аминокислотным позициям с 153 до 392.

В настоящем документе "γ-карбоксиглутаматный (Gla) домен" относится к части белка, например витамин K-зависимого белка, которая содержит посттрансляционные модификации путем витамин K-зависимого карбоксилирования глутаматных аминокислотных остатков, как правило, большей части, но не всех глутаматных аминокислотных остатков. Gla домен ответственен за высокоаффинное связывание ионов кальция и связывание отрицательно заряженных фосфолипидов. Как правило, домен Gla начинается на N-конце зрелой формы витамин K-зависимых белков и заканчивается консервативным ароматическим остатком. В зрелом полипептиде FVII домен Gla соответствует аминокислотным позициям с 1 по 45 в примере полипептида, приведенном в SEQ ID NO: 3. Домены Gla хорошо известны и их локусы в конкретных полипептидах могут быть определены. Домены Gla различных витамин K-зависимых белков обладают гомологией последовательности, структурной и функциональной гомологией, включая кластеризацию N-концевых гидрофобных остатков в гидрофобную группу, которая выступает посредником во взаимодействии с отрицательно заряженными фосфолипидами на поверхности мембраны клетки. Примеры других Gla-содержащих полипептидов включают, но не ограничиваются, FIX, FX, протромбином, белком C, белком S, остеокальцином, белком Gla, Growth-arrest-specific белком 6 (Gas6) и белком Z. Домены Gla этих и других белков приведены в любой из последовательностей SEQ ID NO: 83-94.

Используемые в настоящем документе термины "нативный" или "эндогенный" со ссылкой на домен Gla относятся к нативному домену Gla, связанному со всем полипептидом или частью полипептида, обладающего доменом Gla. Для целей настоящего изобретения нативный домен Gla упоминают в связи с полипептидом FVII. Например, нативный домен Gla из FVII, приведенный в SEQ ID NO: 92, соответствует аминокислотам 1-45 из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 3.

В настоящем документе "гетерологичный домен Gla" представляет собой домен Gla из полипептида того же вида или другого вида, который не является Gla доменом FVII.

Примеры гетерологичного домена Gla включают домены Gla из Gla-содержащих полипептидов, включая, но не ограничиваясь, FIX, FX, протромбин, белок C, белок S, остеокальцин, матриксный белок Gla, Growth-arrest-specific белоком 6 (Gas6) и белком Z. Домены Gla этих и других белков приведены в любой из последовательностей SEQ ID NO: 83-91, 93 и 94.

В настоящем документе "непрерывная часть домена Gla" относится по меньшей мере к двум или нескольким непрерывно соединенным аминокислотам, как правило, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 15, 20, 30, 40 или более аминокислотам вплоть до всех аминокислот, которые составляют домен Gla.

Используемый в настоящем документе термин "достаточная для связывания фосфолипидов часть домена Gla" относится по меньшей мере к одной аминокислоте, как правило, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 15 или более аминокислотам домена, но менее чем всем аминокислотам домена, при этом полипептид, который содержит такие аминокислоты, связывает фосфолипиды.

Используемый в настоящем документе термин "замена" по отношению к домену Gla или термин "замена домена Gla" относится к процессу, посредством которого эндогенный домен Gla белка заменен с использованием рекомбинантных, синтетических или других методов на домен Gla другого белка. В контексте "замены домена Gla" "домен Gla" представляет собой любой набор аминокислот из домена Gla и соседних районов, который сохраняет способность связывать фосфолипиды. Как правило, замена домена Gla включает замену от 40 до 50 аминокислот эндогенного белка последовательностью от 40 до 50 аминокислот другого белка, но может включать меньше или больше аминокислот.

Используемый в настоящем документе термин "домен эпидермального фактора роста" (EGF) (EGF-1 или EGF-2) относится к части белка, обладающей гомологией последовательности со специфической частью последовательности эпидермального фактора роста (EGF), включающей от 30 до 40 аминокислотных остатков. EGF домен включает шесть остатков цистеина, которые (в EGF) образуют дисульфидные связи. Основой структуры домена EGF является двухцепочечный β-лист, за которым следует петля с коротким C-концевым двухцепочечным листом. FVII включает два домена EGF: EGF-1 и EGF-2. Эти домены соответствуют аминокислотным позициям 46-82 и 87-128 соответственно, в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3.

В настоящем документе термины "немодифицированный полипептид" или "немодифицированный FVII" и их грамматические модификации относятся к исходному полипептиду, который был выбран для модификации, как это предусмотрено в настоящем документе. Исходный полипептид может представлять собой природную форму, дикий тип полипептида. Кроме того, исходный полипептид может быть изменен или мутирован, так что он отличается от нативной изоформы дикого типа, но, тем не менее, полипептид может упоминаться в настоящем документе в качестве исходного немодифицированного полипептида по отношению к последующей его модификации, производимой по настоящему документу. Таким образом, известные в уровне техники белки, которые были изменены для получения желаемого увеличения или уменьшения конкретного вида активности или свойства по сравнению с немодифицированным белком, могут быть выбраны и использованы в качестве исходного немодифицированного полипеп-

тида. Например, белок, который был изменен относительно его нативной формы путем одной или нескольких аминокислотных замен и который обладает увеличенным или уменьшенным требуемым свойством, например белок, в котором модифицирован аминокислотный остаток или остатки для изменения гликозилирования, может представлять собой целевой белок для дальнейшей модификации того же или другого свойства и упоминаться в настоящем документе как немодифицированный. Примеры модифицированных полипептидов FVII известны и включают любые полипептиды FVII описанные, например, в патентах США №№ 5580560, 6017882, 6693075, 6762286 и 6806063, опубликованных заявках США №№ 20030100506 и 20040220106 и международных заявках №№ WO 1988010295, WO 200183725, WO 2003093465, WO 200338162, WO 2004083361, WO 2004108763, WO 2004029090, WO 2004029091, WO 2004111242 и WO 2005123916.

Используемые здесь термины "модифицированные полипептиды фактора VII" и "модифицированный фактор VII" относятся к полипептиду FVII, который обладает одним или более отличиями аминокислотной последовательности по сравнению с немодифицированным полипептидом фактора VII. Одно или несколько отличий аминокислотной последовательности могут представлять собой мутации аминокислот, такие как одну или несколько аминокислотных замен (замещений), вставок и удалений или могут представлять собой вставку и удаление целых доменов, а также любые их комбинации. Как правило, модифицированный полипептид FVII обладает одним или несколькими модификациями первичной последовательности по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Например, модифицированный полипептид FVII, предусмотренный в настоящем документе, может обладать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50 или более аминокислотными отличиями по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Любые модификации допустимы, пока полученный полипептид проявляет по меньшей мере одну активность нативного полипептида FVII, такую как, например, каталитическая активность, протеолитическая активность, способность связывать ТФ или способность связываться с активированными тромбоцитами.

В настоящем документе термин "ингибиторы коагуляции" относится к белкам или молекулам, которые ингибируют или предотвращают свертывание или образование сгустков. Ингибирование или предотвращение коагуляции можно наблюдать in vivo или in vitro и проанализировать с помощью любого способа, известного в уровне техники, включая, но не ограничиваясь анализом тромбопластинового времени (ТВ) или активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ).

В настоящем документе "ингибитор пути тканевого фактора" (TFPI, также известный как TFPI-1) является ингибитором Кунитца, который участвует в формировании четвертичного ТФ/FVIIa/TFPI/FXa ингибиторного комплекса, в котором активность FVIIa ингибирована. После альтернативного сплайсинга TFPI экспрессируется с образованием двух предшественников, TFPIα (SEQ ID NO: 75) и TFPIp (SEQ ID NO: 77) предшественников, которые расщепляются во время секреции с образованием зрелых белков, содержащих 276 аминокислот (SEQ ID NO: 76) и 223 аминокислоты (SEQ ID NO: 78) соответственно. TFPI содержит 3 домена Кунитца, из которых домен Кунитца 1 отвечает за связывание и ингибирование FVIIa. В настоящем документе TFPI-2 (также известный как плацентарный белок 5 (PP5) и связанный с матриксом ингибитор сериновых протеаз (MSPI)) относится к гомологу TFPI. Состоящий из 213 аминокислот зрелый белок TFPI-2 (SEQ ID NO: 79) содержит три домена Кунитца, которые обладают 43, 35 и 53% идентичности первичной последовательности с доменами Кунитца 1, 2, 3 TFPI-1 соответственно. TFPI-2 играет роль в регуляции расщепления и реконструкции внеклеточного матрикса и не считается важным фактором свертывания.

В настоящем документе "антитромбин III" (AT-III) относится к ингибиторам сериновых протеаз (серпинам). AT-III синтезируется в виде белка-предшественника, содержащего 464 аминокислотных остатка (SEQ ID NO: 95), который расщепляется во время секреции с образованием зрелого антитромбина, включающего 432 аминокислоты (SEQ ID NO: 96).

В настоящем документе "кофакторы" относятся к белкам или молекулам, которые связываются с другими специфическими белками или молекулами с образованием активного комплекса. В некоторых примерах связывание с кофактором необходимо для оптимальной протеолитической активности. Например, тканевый фактор (ТФ) является кофактором FVIIa. Связывание FVIIa для ТФ индуцирует конформационные изменения, которые приводят к увеличению протеолитической активности FVIIa по отношению к его субстратам, FX и FIX.

В настоящем документе "тканевый фактор" (ТФ) относится к трансмембранному гликопротеину, включающему 263 аминокислоты (SEQ ID NO: 97), который функционирует в качестве кофактора для FVIIa. Тканевый фактор конститутивно экспрессируется в гладкомышечных клетках и фибробластах и способствует инициации коагуляции путем связывания FVII и FVIIa при контакте указанных клеток с кровотоком после повреждения тканей.

В настоящем документе "активированные тромбоциты" относятся к тромбоцитам, в которых связывание молекул, таких как коллаген, тромбоксан А2, АДФ и тромбин индуцирует различные изменения в морфологии, фенотипе и функции клеток, что, в конечном счете, способствует коагуляции. Например, форма активированных тромбоцитов изменяется на более аморфную форму с пальцеобразными выступами. Активированные тромбоциты также претерпевают "флип-переход" клеточной мембраны, заклю-

чающийся в перемещении фосфатидилсерина и других отрицательно заряженных фосфолипидов, которые обычно присутствуют на внутренней стороне клеточной мембраны, на внешнюю, обращенную к плазме поверхность мембраны. Мембраны активированных тромбоцитов представляют собой поверхность, на которой осуществляются многие из реакций свертывания. Активированные тромбоциты также секретируют везикулы, содержащие такие прокоагулянтные факторы, как фактора Виллебранда, FV, тромбин, АДФ и тромбоксан А2, и склеиваются друг с другом с образованием тромбоцитной пробки, которая стабилизируется фибрином с формированием сгустка.

В настоящем документе термин "увеличенное связывание и/или увеличенная аффинность к активированным тромбоцитам", а также любые его грамматические изменения относятся к увеличению способности полипептида или белка, например полипептида FVII, связываться с поверхностью активированных тромбоцитов по сравнению с исходным полипептидом или белком. Например, способность модифицированного полипептида FVII связываться с активированными тромбоцитами может быть больше, чем способность немодифицированного полипептида FVII связываться с активированными тромбоцитами. Связывание и/или аффинность полипептида к активированным тромбоцитам может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению со связыванием и/или аффинностью немодифицированного полипептида. Анализы для определения связывания и/или аффинности полипептида к активированным тромбоцитам известны в области техники. Связывание полипептида FVII с активированными тромбоцитами опосредуется взаимодействием аминокислот в домене Gla полипептида FVII с отрицательно заряженными фосфолипидами, такими как фосфатидилсерин, на активированных тромбоцитах. Таким образом, способы анализа связывания полипептидов, таких как полипептиды FVII, с активированными тромбоцитами основаны на использовании мембран ивезикул, которые содержат фосфолипиды, такие как фосфатидилсерин. Например, способность полипептида связываться с активированными тромбоцитами отражается на способности полипептида связываться с фосфолипидными везикулами, которую можно измерить с помощью рассеяния света.

В настоящем документе термин "увеличенное связывание и/или аффинность к фосфолипидам", а также любые его грамматические изменения относятся к увеличению способности полипептида или белка связываться с фосфолипидами по сравнению с исходным полипептидом или белком. Фосфолипиды могут включать любые фосфолипиды, но особенно фосфатидилсерин. Связывание и/или аффинность полипептида к фосфолипидам может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению со связыванием и/или аффинностью немодифицированного полипептида. Анализы для определения аффинности и/или связывания полипептида с фосфолипидами известны в уровне техники. Например, связывание полипептида FVII с фосфолипидными везикулами может быть определено по относительному рассеянию света под углом 90° к падающему свету. Для определения константы диссоциации измеряют интенсивность рассеяния света на фосфолипидных везикулах и на фосфолипидных везикулах с FVII. Для измерения аффинности полипептидов FVII к фосфолипидным мембранам также может быть использован поверхностный плазмонный резонанс, например, измеренный на биосенсоре BIAcore.

В настоящем документе "повышенная устойчивость к ингибиторам", "повышенная устойчивость к AT-III" или "повышенная устойчивость к TFPI" относятся к любому снижению чувствительности полипептида к действию ингибитора, такого как AT-III или TFPI, по сравнению с начальным полипептидом, таким как немодифицированный полипептид FVII. Повышенная устойчивость к ингибитору, такому как AT-III, может быть оценена по связыванию модифицированного полипептида FVII с ингибитором. Повышенная устойчивость к ингибиторам, таким как AT-III, также может быть оценена путем измерения собственной активности или коагулянтной активности полипептида FVII в присутствии AT-III. Анализы для определения связывания полипептида с ингибитором известны в уровне техники. Для ковалентных ингибиторов, таких как, например, AT-III, может быть измерена константа скорости второго порядка для ингибирования. Для нековалентных ингибиторов, таких как, например, TFPI, может быть измерена константа ингибирования. Кроме того, для измерения связывания полипептидов FVII с AT-III или другими ингибиторами также может быть использован поверхностный плазмонный резонанс, измеренный, например, с помощью биосенсора BIAcore. Однако для ковалентных ингибиторов, таких как AT-III, с помощью BIAcore может быть измерена только скорость ассоциации. Анализы для определения ингибиторного эффекта, например ингибиторного эффекта AT-III, на коагулянтную активность или собственную активность FVII также известны в уровне техники. Например, может быть измерена способность модифицированного полипептида FVII расщеплять его субстрат FX при наличии или в отсутствие AT-III, при этом может быть определена степень, в которой AT-III ингибирует реакцию. Полученные результаты можно сравнить со способностью немодифицированного полипептида FVII расщеплять его субстрат FX при наличии или в отсутствие AT-III. Модифицированный полипептид может обладать повышенной устойчивостью к ингибитору, например, повышенной на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% или более устойчивостью к воздействию ингибитора по сравнению с немодифицированным полипептидом.

Используемые в настоящем документе термины "повышенная устойчивость к ингибированию

Zn^{2+}", "повышенная устойчивость к ингибиторному эффекту Zn^{2+}" или "повышенная устойчивость к Zn^{2+}" означают любое уменьшение чувствительности полипептида к ингибиторному эффекту Zn^{2+} по сравнению с начальным полипептидом, таким как немодифицированный полипептид FVII. Повышенная устойчивость к Zn^{2+} может быть оценена, например, по измерению собственной активности или коагулянтной активности полипептида FVII в присутствии Zn, как описано в примере 11. Повышенная устойчивость к ингибиторному эффекту Zn^{2+} может быть результатом снижения связывания с Zn^{2+}. Снижение связывания Zn^{2+} может быть оценено путем измерения количества связанного Zn^{2+} на молекулу FVIIa, путем измерения аффинности связывания Zn^{2+} с FVIIa или путем измерения IC_{50} для ингибирования активности FVIIa цинком. Модифицированный полипептид может обладать повышенной устойчивостью к воздействию Zn^{2+}, например повышенной на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% или более устойчивостью к воздействию Zn^{2+} по сравнению с немодифицированным полипептидом.

В настоящем документе "связывающая сывороточный альбумин последовательность" относится к последовательности аминокислотных остатков, которая может связывать сывороточный альбумин. Таким образом, при вставке в полипептид FVII связывающей сывороточный альбумин последовательности может быть увеличена аффинность или связывание полипептида FVII с сывороточным альбумином. Модифицированный полипептид может обладать повышенной аффинностью и/или связыванием с сывороточным альбумином, например повышенной на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% или более аффинностью и/или связыванием с сывороточным альбумином по сравнению с немодифицированным полипептидом. Обычно связывающая сывороточный альбумин последовательность включает 10 или более аминокислот, обычно 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 30, 40 или более аминокислот. Примеры связывающих сывороточный альбумин последовательностей приведены в SEQ ID NOS: 103-109.

В настоящем документе "связывающая интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность" относится к последовательности аминокислотных остатков, которая может связывать интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$. Таким образом, при вставке в полипептид FVII связывающей интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательности может быть увеличена способность полипептида FVII связывать интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ и, следственно, тромбоциты, в том числе активированные тромбоциты. Модифицированные полипептиды FVII, включающие связывающую интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность, проявляют увеличенную аффинность и/или связывание с интегрином $\alpha_{IIb}\beta_3$ и/или тромбоцитами. Модифицированный полипептид может обладать повышенной аффинностью и/или связыванием с интегрином тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$, например повышенной на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 200, 300, 400, 500% или более аффинностью и/или связыванием с интегрином тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ по сравнению с немодифицированным полипептидом. Обычно связывающая интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность содержит по меньшей мере 5 или более аминокислот, как правило, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 30, 40 или более аминокислот. Примеры связывающих интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательностей приведены в SEQ ID NO: 110-112.

В настоящем документе "сайт гликозилирования" относится к аминокислоте в полипептиде, к которой может быть присоединен углеводный фрагмент. Как правило, гликозилированный белок содержит один или более аминокислотных остатков, таких как аспарагин или серин, для прикрепления углеводных фрагментов.

В настоящем документе "нативный сайт гликозилирования" относится к аминокислоте, к которой в полипептиде дикого типа присоединен углеводный фрагмент. В FVII существует четыре нативных сайта гликозилирования, два сайта N-гликозилирования в положениях N145 и N322 и два сайта O-гликозилирования в положениях S52 и S60, положения соответствуют позициям аминокислот в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3.

В настоящем документе "ненативный сайт гликозилирования" относится к аминокислоте, к которой в модифицированном полипептиде присоединен углеводный фрагмент и к которой не присоединен такой фрагмент в полипептиде дикого типа. Ненативные сайты гликозилирования могут быть введены в полипептид FVII с помощью замен аминокислот. Сайты O-гликозилирования могут быть созданы, например, путем замены нативного остатка аминокислоты на серин или треонин.

Сайты N-гликозилирования могут быть созданы, например, путем создания мотива Asn-Xaa-Ser/Thr/Cys, где Xaa не является пролином. Создание указанной консенсусной последовательности модификацией аминокислот может включать, например, замену одного нативного аминокислотного остатка на аспарагин, замену одного нативного аминокислотного остатка на серин, треонин и цистеин или двойную замену аминокислот, включающую первую замену нативного аминокислотного остатка на аспарагин и вторую замену нативного аминокислотного остатка на серин, треонин и цистеин.

Используемый здесь термин "биологическая активность" относится к активности соединения in vivo или физиологической реакции, которая проявляется при in vivo введении соединения, композиции или другой смеси. Биологическая активность, таким образом, охватывает терапевтический эффект и фармацевтическую активность таких соединений, композиций и смесей. Биологическую активность можно

наблюдать в in vitro системах, предназначенных для исследования или использования такой активности. Таким образом, в настоящем документе биологическая активность полипептида FVII охватывает коагулянтную активность.

Используемый здесь термин "оценка" и его грамматические изменения относятся к качественному и количественному определению абсолютного значения активности полипептида, а также к получению индекса, коэффициента, процента, визуального показателя или другого показателя уровня активности. Оценка может быть прямой или косвенной. Например, обнаружение расщепления субстрата полипептида может осуществляться прямым измерением продукта или косвенным путем через определение активности расщепленного субстрата.

В настоящем документе термин "нумерация химотрипсина" относится к нумерации аминокислот зрелого полипептида химотрипсина из SEQ ID NO: 80. Протеазный домен другой протеазы, такой как, например, протеазный домен фактора VII, может быть выровнен с химотрипсином. В этом случае аминокислотам фактора VII, которые соответствуют аминокислотам химотрипсина, дают номера аминокислот химотрипсина. Соответствующие позиции могут быть определены специалистом в данной области техники с помощью ручного выравнивания или с помощью многочисленных доступных программ выравнивания (например, BLASTP). Соответствующие позиции также могут быть определены на основании структурного выравнивания, например с помощью компьютерного выравнивания структуры белка. Утверждение, что аминокислоты полипептида соответствуют аминокислотам указанной последовательности, относится к аминокислотам, идентифицированным в процессе выравнивания полипептида с раскрытой последовательностью с достижением максимальной идентичности или гомологии (выравниваются консервативные аминокислоты) с помощью стандартного алгоритма выравнивания, такого как алгоритм GAP. Соответствующие химотрипсиновые номера аминокислот с 1 по 406 из полипептида FVII, приведенного в SEQ ID NO: 3, представлены в табл. 1. Аминокислотные позиции, соответствующие приведенной в SEQ ID NO: 3 последовательности, показаны обычным шрифтом, аминокислотные остатки на этих позициях выделены жирным шрифтом, соответствующие номера по нумерации химотрипсина выделены курсивом. Например, при выравнивании зрелого фактора VII (SEQ ID NO: 3) со зрелыми химотрипсином (SEQ ID NO: 80) изолейцину (I) в положении 153 в факторе VII дается номер 116 по нумерации химотрипсина. Последующие аминокислоты пронумерованы соответственно. В еще одном примере глутаминовая кислота (E) в положении 210 зрелого фактора VII (SEQ ID NO: 3) соответствует аминокислотной позиции E70 по нумерации химотрипсина. Если остаток присутствует в протеазе, но отсутствует в химотрипсине, аминокислотному остатку дают буквенное обозначение. Например, остатки, которые являются частью петли с аминокислотой 60 по нумерации химотрипсина, но представляют собой вставку в последовательность фактора VII по сравнению с химотрипсином, называют, например, K60a, I60b, K60c и N60d. Эти остатки соответствуют K197, I198, K199 и N200 соответственно, по нумерации последовательности зрелого фактора VII (SEQ ID NO: 3).

Таблица 1

Нумерация фактора VII по химотрипсину

153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167
I	V	G	G	K	V	C	P	K	G	E	C	P	W	Q
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30

168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182
V	L	L	L	V	N	G	A	Q	L	C	G	G	T	L
31	32	33	34	35	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46

183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197
I	N	T	I	W	V	V	S	A	A	H	C	F	D	K
47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	60A

198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212
I	K	N	W	R	N	L	I	A	V	L	G	E	H	D
60B	60C	60D	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72

213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227
L	S	E	H	D	G	D	E	Q	S	R	R	V	A	Q
73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87

228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242
V	I	I	P	S	T	Y	V	P	G	T	T	N	H	D
88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102

243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257
I	A	L	L	R	L	H	Q	P	V	V	L	T	D	H
103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117

258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272
V	V	P	L	C	L	P	E	R	T	F	S	E	R	T
118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	129A	129B	129C

273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287
L	A	F	V	R	F	S	L	V	S	G	W	G	Q	L
129D	129E	129F	129G	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144

288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302
L	D	R	G	A	T	A	L	E	L	M	V	L	N	V
145	146	147	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160

303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317
P	R	L	M	T	Q	D	C	L	Q	Q	S	R	K	V
161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	170A	170B	170C	170D	170E

318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332
G	D	S	P	N	I	T	E	Y	M	F	C	A	G	Y
170F	170G	170H	170I	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184A	184

333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347
S	D	G	S	K	D	S	C	K	G	D	S	G	G	P
185	186	187	188A	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198

348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362
H	A	T	H	Y	R	G	T	W	Y	L	T	G	I	V
199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213

363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377
S	W	G	Q	G	C	A	T	V	G	H	F	G	V	Y
214	215	216	217	219	220	221A	221	222	223	224	225	226	227	228

378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392
T	R	V	S	Q	Y	I	E	W	L	Q	K	L	M	R
229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243

393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	
S	E	P	R	P	G	V	L	L	R	A	P	F	P	
244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	

В настоящем документе "нуклеиновые кислоты" включают ДНК, РНК и их аналоги, в том числе пептидные нуклеиновые кислоты (PNA) и их смеси. Нуклеиновые кислоты могут быть одноцепочечными или двухцепочечными. Когда речь идет о зондах или праймерах, которые по желанию являются мечеными, например, обнаруживаемой меткой, например люминесцентной или радиоактивной меткой, подразумеваются одноцепочечные молекулы. Такие молекулы, как правило, обладают такой длиной, что их мишени при зондировании или праймировании библиотеки являются статистически уникальными или встречаются в виде низкого числа копий (обычно менее 5, как правило, менее 3). Обычно зонд или праймер содержит последовательность по меньшей мере из 14, 16 или 30 непрерывно расположенных нуклеотидов, комплементарных или идентичных интересующему гену. Зонды и праймеры могут включать 10, 20, 30, 50, 100 или более нуклеотидов в длину.

В настоящем документе "пептид" относится к полипептиду, который включает от 2 до 40 аминокислот в длину.

В настоящем документе аминокислоты, входящие в различные аминокислотные последовательности, предусмотренные здесь, обозначаются в соответствии с известными трехбуквенными или однобуквенными аббревиатурами (табл. 2). Нуклеотиды, входящие в различные фрагменты нуклеиновых кислот, называют стандартными однобуквенными обозначениями, обычно используемыми в уровне техники.

В настоящем документе "аминокислота" представляет собой органическое соединение, содержащее аминогруппу и карбоксильную группу. Полипептид содержит две или более аминокислот. В настоящем документе аминокислоты включают двадцать природных аминокислот, неприродные аминокислоты и аналоги аминокислот (например, аминокислоты, у которых α-атом углерода имеет боковую цепь).

Аббревиатуры для аминокислотных остатков в соответствии со стандартной номенклатурой полипептидов, описанной в J. Biol. Chem., 243:3552-3559 (1969) и принятой 37 C.F.R, §§ 1.821-1.822, приведены в табл. 2.

Таблица 2

Таблица соответствия

Обозначение		
однобуквенное	**трехбуквенное**	**аминокислота**
Y	Tyr	Тирозин
G	Gly	Глицин
F	Phe	Фенилаланин
M	Met	Метионин
A	Ala	Аланин
S	Ser	Серин
I	Ile	Изолейцин
L	Leu	Лейцин
T	Trh	Треонин
V	Val	Валин
P	Pro	Пролин
K	Lys	Лизин
H	His	Гистидин
Q	Gln	Глутамин
E	Glu	Глутаминовая кислота
Z	Glx	Glu и/или Gln
W	Trp	Триптофан
R	Arg	Аргинин
D	Asp	Аспарагиновая кислота
N	Asn	Аспарагин
B	Asx	Asp и/или Asn
C	Cys	Цистеин
X	Xaa	Неизвестная или другая

Следует отметить, что все последовательности аминокислотных остатков, представленные в настоящем документе в виде формулы, ориентированы слева направо в обычном направлении от аминоконца к карбоксильному концу.

Кроме того, термин "аминокислотный остаток" в широком смысле включает аминокислоты, перечисленные в табл. соответствия (табл. 2), модифицированные и необычные аминокислоты, такие как упомянутые в 37 C.F.R. §§ 1.821-1.822 и включенные здесь в качестве ссылки. Кроме того, следует отметить, что тире в начале или в конце аминокислотной последовательности указывает на пептидную связь с дальнейшей последовательностью из одного или более аминокислотных остатков, с аминоконцевой группой, такой как NH_2, или с карбоксильной группой, такой как COOH.

В настоящем документе термин "гидрофобные аминокислоты" включает любую из аминокислот, для которой с использованием непрерывной шкалы гидрофобности Айзенберга установлено, что она является гидрофобной. Примерами являются природные гидрофобные аминокислоты, такие как изолейцин, фенилаланин, валин, лейцин, триптофан, метионин, аланин, глицин, цистеин и тирозин (Eisenberg и

др., (1982) Faraday Symp. Chem. Soc.l7:109-120). Неприродные гидрофобные аминокислоты также включены в этот термин.

В настоящем документе "кислые аминокислоты" включают аспарагиновую кислоту и глутаминовую кислоту из природных аминокислот. Неприродные кислые аминокислоты также включены в этот термин.

Используемый здесь термин "природные аминокислоты" относится к 20 L-аминокислотам, которые встречаются в полипептидах.

Используемый здесь термин "неприродные аминокислоты" относится к органическим соединениям, содержащим аминогруппу и карбоксильную группу, которые не являются природными аминокислотами, перечисленными в табл. 2. Неприродные аминокислоты, таким образом, включают, например, аминокислоты или аналоги аминокислот за исключением 20 природных аминокислот и включают, но не ограничиваются, D-изостереомеры аминокислот. Примеры неприродных аминокислот известны специалистам в данной области и могут быть включены в модифицированные полипептиды фактора VII.

В настоящем документе "конструкция ДНК" представляет собой одноцепочечную или двухцепочечную линейную или кольцевую молекулу ДНК, которая содержит сегменты ДНК, комбинированные и составленные в порядке, не встречающемся в природе. Конструкция ДНК существует как результат человеческой деятельности и включает клоны и другие копии подвергнутых манипуляции молекул.

В настоящем документе "сегмент ДНК" представляет собой часть большей молекулы ДНК с указанными свойстами. Например, сегмент ДНК, кодирующий указанный полипептид, представляет собой часть большей молекулы ДНК, например плазмиды или фрагмента плазмиды, который при его прочтении от 5'-конца к 3'-концу кодирует последовательность аминокислот указанного полипептида.

Используемый здесь термин "полинуклеотид" означает одноцепочечный или двухцепочечный полимер дезоксирибонуклеотидов или рибонуклеотидов, читаемый от 5' к 3' концу. Полинуклеотиды включают РНК и ДНК и могут быть выделены из природных источников, синтезированы in vitro или получены комбинированием натуральных и синтетических молекул. Длина полинуклеотидной молекулы дается здесь в нуклеотидах (сокращенно "нт") или парах оснований (сокращенно "bp").

Термин "нуклеотиды" используется для одноцепочечных и двухцепочечных молекул, где позволяет контекст. Когда термин применяется к двухцепочечной молекуле, он используется для обозначения общей длины и является синонимом термина пара оснований. Для специалиста в данной области техники очевидно, что две цепи двухцепочечного полинуклеотида могут незначительно отличаться по длине, и концы их могут быть расположены уступом, поэтому все нуклеотиды в двухцепочечной молекуле полинуклеотида не могут образовывать пары. Такие неспаренные концы обычно не превышают 20 нуклеотидов в длину.

В настоящем документе "первичная последовательность" относится к последовательности аминокислотных остатков в полипептиде.

Используемый здесь термин "сходство" для двух белков или нуклеиновых кислот относится к близости аминокислотных последовательностей белков или нуклеотидных последовательностей нуклеиновых кислот. Сходство может быть основано на степени идентичности и/или гомологии последовательностей остатков.

Способы оценки степени сходства белков или нуклеиновых кислот известны специалистам в данной области. Например, в одном способе оценки сходства последовательностей две аминокислотные или нуклеотидные последовательности выравнивают таким образом, чтобы достичь максимального уровня идентичности между последовательностями. Идентичность относится к степени, в которой аминокислотные или нуклеотидные последовательности инвариантны. При выравнивании аминокислотных последовательностей и в некоторой степени последовательностей нуклеотидов также можно принять во внимание консервативные различия и/или частые замены аминокислот (или нуклеотидов). Консервативными различиями являются те, при которых сохраняются физико-химические свойства участвующих остатков. Выравнивание может быть глобальным (выравнивание сравниваемых последовательностей по всей длине последовательностей и по всем остаткам) или локальным (выравнивание частей последовательностей, которые включают только наиболее близкий район или районы).

Используемые здесь термины "гомология" и "идентичность" употребляются как синонимы, но гомология по отношению к белкам может включать консервативные замены аминокислот. В общем, для определения соответствующих позиций последовательности аминокислот выравнивают для достижения наибольшего совпадения (см., например, Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., изд, Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., изд, Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, часть I, Griffin, A.M., and Griffin, H. G., изд., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; и Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., изд., M Stockton Press, New York, 1991; Carillo и др. (1988) SIAMJ Applied Math 48:1073).

В настоящем документе термин "идентичность последовательности" относится к числу идентичных аминокислот (или нуклеотидных оснований) при сравнении исследуемого и исходного полипептида или полинуклеотида. Гомологичные полипептиды обладают заранее определенным числом идентичных или

гомологичных аминокислотных остатков. Гомология подразумевает консервативные аминокислотные замены и идентичные остатки. Идентичность последовательности может быть определена по стандартному алгоритму выравнивания, использующему выбранные по умолчанию штрафы за разрыв в последовательности, установленные разработчиком. Гомологичные молекулы нуклеиновой кислоты обладают заранее определенным числом идентичных или гомологичных нуклеотидов. Гомология подразумевает замены, которые не изменяют закодированные аминокислоты (т.е. "молчащие замены") и идентичные остатки. Существенно гомологичные молекулы нуклеиновых кислот обычно гибридизуются в умеренных условиях или в жестких условиях по всей длине нуклеиновой кислоты или по меньшей мере приблизительно по 70, 80 или 90% от полной длины интересующей молекулы нуклеиновой кислоты. Также предусмотрены молекулы нуклеиновых кислот, которые содержат вырожденные кодоны вместо кодона в гибридизуемой молекуле нуклеиновой кислоты. (Для определения гомологии белков консервативные аминокислоты а также идентичные аминокислоты могут быть выровнены, в этом случае процент идентичности и процент гомологии отличаются). Обладают ли любые две молекулы нуклеиновой кислоты нуклеотидными последовательностями (или любые два полипептида имеют аминокислотные последовательности), которые по меньшей мере на 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% "идентичны", может быть определено с помощью известных алгоритмов, таких как программа FASTA с использованием, например, параметров по умолчанию, как описано Pearson и др., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 2444 (1988) (другие программы включают пакет программ GCG (Devereux, J., и др., Nucleic Acids Research 12(1): 387 (1984)), BLASTP, BLASTN, FASTA (Atschul, S.F., и др., J. Molec. Biol. 215:403 (1990); Guide to HugeComputers, Martin J. Bishop, изд., Academic Press, San Diego (1994), и Carillo и др. SIAM J Applied Math 48: 1073 (1988)). Например, функция BLAST базы данных Национального центра биотехнологической информации может быть использована для определения идентичности. Другие коммерчески доступные или общедоступные программы включают программу DNAStar "MegAlign" (Madison, Висконсин) и программу "Gap" генетической компьютерной группы университета Висконсина University of Wisconsin Genetics Computer Group (UWG) (Madison, Висконсин). Процент гомологии или идентичность белков и/или молекул нуклеиновых кислот могут быть определены, например, путем сравнения информации о последовательностях с использованием программы GAP (см., например, Needleman и др., J. Mol. Biol. 48: 443 (1970), с изменениями, внесенными Smith и Waterman (Adv. Appl. Math. 2: 482 (1981)). Программа GAP определяет сходство как число выровненных символов (т.е. нуклеотидов или аминокислот), которые являются одинаковыми, деленное на общее число символов в более короткой из двух последовательностей. Параметры по умолчанию для программы GAP могут включать: (1) унарную матрицу сравнения (содержащую значение 1 для совпадения и 0 для не совпадения) и взвешенную матрицу сравнения Gribskov и др., Nucl. Acids Res. 14: 6745 (1986), как описано Schwartz и Dayhoff, Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, сс. 353-358 (1979); (2) штраф в размере 3,0 для каждого разрыва в последовательности, дополнительный штраф 0,10 для каждого символа в каждом разрыве и (3) штраф не применяется для разрывов в концах последовательности.

Таким образом, используемый здесь термин "идентичность" относится к сравнению исследуемого и начального полипептида или полинуклеотида. Например, фраза "по меньшей мере на 90% идентичны" относится к идентичности от 90 до 100% по отношению к начальному полипептиду. Принимая для иллюстративных целей длину исследуемого и начального полипептидов за 100 аминокислот, идентичность на уровне 90% и более свидетельствует о том, что не более чем 10% (т.е. 10 из 100) аминокислот в исследуемом полипептиде отличается от начального полипептида. Подобные сравнения можно провести между исследуемым и начальным полинуклеотидами. Такие различия могут быть представлены в виде точечных мутаций, случайно распределенных по всей длине аминокислотной последовательности, или различия могут быть сосредоточены в одном или нескольких местах различной длины вплоть до максимально допустимой, например, 10/100 различающихся аминокислот (около 90% идентичности). Различия определяются как замены, вставки и удаления нуклеиновых оснований и аминокислот. При уровне гомологии или идентичности выше приблизительно 85-90%) результат не должен зависеть от программы и параметров штрафа за разрыв, такие высокие уровни идентичности могут быть легко оценены, часто без использования программного обеспечения.

В настоящем документе термины "в значительной степени идентичные" или "сходные" варьируются в зависимости от контекста, как это понимает специалист в данной области техники.

В настоящем документе "выровненная последовательность" относится к использованию гомологии (сходства и/или идентичности) для выравнивания соответствующих позиций в последовательности нуклеотидов или аминокислот. Как правило, две или более последовательности, которые связаны 50% и более идентичности, выравниваются. Выровненное множество последовательностей относится к 2 или более последовательностям, которые являются выровненными в соответствующих позициях, и может включать выравнивание последовательностей, полученных из РНК, таких как EST и другие кДНК, с последовательностью геномной ДНК.

В настоящем документе термин "специфически гибридизируется" относится к отжигу через комплементарное спаривание оснований молекулы нуклеиновой кислоты (например, олигонуклеотида) с целевой молекулой нуклеиновой кислоты. Специалистам в данной области известны in vitro и in vivo

параметры, которые влияют на специфическую гибридизацию, такие как длина и состав конкретной молекулы. Особенно важные для in vitro гибридизации параметры дополнительно включают температуру отжига и отмывания, состав буфера и концентрацию соли. Примеры условий отмывания для удаления неспецифически связанных молекул нуклеиновой кислоты включают 0,1 × SSPE, 0,1% SDS, 65°C при высокой жесткости, и 0,2 × SSPE, 0,1% SDS, 50°C при умеренной жесткости. Эквивалентные условия известны в уровне техники. Специалист в данной области может легко изменить условия, подходящие для конкретной задачи для достижения специфической гибридизации молекул нуклеиновой кислоты с целевыми молекулами нуклеиновой кислоты.

В настоящем документе "выделенный" или "очищенный" полипептид или белок или его биологически-активная часть практически не содержит клеточного материала или других загрязняющих белков из клеток или тканей, из которых происходит белок, или является в значительной степени свободным от химических веществ-предшественников и других химических веществ при химическом синтезе. Препараты могут быть определены как существенно чистые, если они являются свободными от легко обнаруживаемых примесей, определяемых с помощью стандартных способов анализа, таких как тонкослойная хроматография (ТСХ), гель-электрофорез и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), используемых специалистами в области техники для оценки чистоты, или препараты могут быть определены как достаточно чистые, если дальнейшая очистка не изменяет физические и химические свойства вещества, такие как протеолитическая и биологическая активность. Способы очистки соединений для получения существенно химически чистых соединений известны специалистам в данной области. Существенно химически чистые соединения, однако, могут представлять собой смесь стереоизомеров. В таких случаях дополнительная очистка может увеличить удельную активность соединения.

Термин "практически свободный от клеточного материала" относится к препаратам белков, где белок отделен от клеточных компонентов клеток, из которых он выделен или получен рекомбинантно. В одном варианте термин практически свободный от клеточного материала относится к препарату протеазы, имеющему приблизительно менее 30% (на сухой вес) белков, не являющихся протезами (также называемых здесь загрязняющими белками), как правило, менее 20% белков, не являющихся протезами, или 10% белков, не являющихся протезами, или приблизительно менее 5% белков, не являющихся протезами. Если протеаза или ее активная часть являются рекомбинантными, то они являются существенно свободными от культуральной среды, т.е. культуральная среда составляет менее приблизительно или точно 20, 10 или 5% от объема препарата протеазы.

Используемый здесь термин "практически не содержат химических веществ-предшественников и других химических веществ" относится к препарату протеазы, в котором белок отделен от химических веществ-предшественников и других химических веществ, которые использовали в синтезе белка. Этот термин включает препараты протеазы, имеющие менее 30% (на сухой вес), 20, 10, 5% или менее химических веществ-предшественников или химических веществ или компонентов, не являющихся протеазой.

В настоящем документе получение рекомбинантными методами с помощью методов рекомбинантной ДНК относится к использованию хорошо известных способов молекулярной биологии для экспрессии белков, кодируемых клонированной ДНК.

В настоящем документе "вектор" (или плазмида) относится к дискретному элементу, который используется для введения гетерологичных нуклеиновых кислот в клетки для их экспрессии или репликации. Векторы обычно остаются в эписомном состоянии, но могут быть разработаны для осуществления интеграции гена или его части в хромосому генома. Также предусмотрены векторы, которые представляют собой искусственные хромосомы, такие как бактериальные искусственные хромосомы, искусственные хромосомы дрожжей и искусственные хромосомы млекопитающих. Выбор и использование таких векторов хорошо известны специалистам в данной области.

В настоящем документе "экспрессия" означает процесс, посредством которого нуклеиновая кислота транскрибируется в мРНК и транслируется в пептид, полипептид или белок. Если нуклеиновая кислота происходит от геномной ДНК, то при наличии соответствующей выбранной эукариотической клетки-хозяина или организма экспрессия может включать процессинг, такой как сплайсинг РНК.

В настоящем документе "вектор экспрессии" включает векторы, способные экспрессировать ДНК, функционально связанную с регуляторными последовательностями, такими как промоторные районы, которые способны вызывать экспрессию таких фрагментов ДНК. Такие дополнительные сегменты могут включать промоторные и терминаторные последовательности и, при необходимости, могут включать одну или несколько точек начала репликации, один или более маркеров для отбора, энхансер, сигнал полиаденилирования и т.п. Векторы экспрессии обычно получают из плазмидной или вирусной ДНК, или вектор может содержать элементы того и другого. Таким образом, вектор экспрессии относится к рекомбинантным ДНК или РНК конструкциям, например плазмидам, фагам, рекомбинантным вирусам или другим векторам, которые после введения в соответствующую клетку-хозяина приводят к экспрессии клонированной ДНК. Соответствующие векторы экспрессии хорошо известны специалистам в данной области и включают векторы, которые реплицируются в эукариотических клетках и/или прокариотических клетках, векторы, которые остаются в эписомном состоянии, или векторы, которые интегриру-

ются в геном клетки-хозяина.

В настоящем документе вектор также включает "вирусный вектор" или "вирусные векторы". Вирусные векторы представляют собой сконструированные вирусы, функционально связанные с экзогенным геном для передачи (как носитель или челнок) экзогенного гена в клетки.

В настоящем документе "аденовирус" относится к любому вирусу из группы ДНК-содержащих вирусов, которые вызывают конъюнктивит и инфекции верхних дыхательных путей у человека.

В настоящем документе "голая" ДНК относится к свободной от гистонов ДНК, которая может быть использована для получения вакцин и генной терапии. Голая ДНК представляет собой генетический материал, который передается от клетки к клетке во время переноса генов, называемого трансформацией или трансфекцией. При трансформации или трансфекции очищенная или голая ДНК, поглощенная клеткой-реципиентом, дает клетке-реципиенту новую характеристику или фенотип.

В настоящем документе термины "функционально" или "функционально связанный" по отношению к сегментам ДНК означают, что сегменты расположены так, что они функционируют в соответствии с их назначением, например транскрипция инициируется на промоторе и проходит через кодирующий сегмент до терминатора.

В настоящем документе "агент" модулирует активность белка или экспрессию гена или нуклеиновой кислоты, уменьшает или увеличивает или иным образом изменяет активность белка или каким-либо образом усиливает или ослабляет или иным образом изменяет экспрессию нуклеиновой кислоты в клетке.

В настоящем документе "химерный белок" или "гибридный белок" относится к полипептиду, функционально связанному с другим полипептидом. Химерные или гибридные белки, предусмотренные в настоящем документе, могут включать один или несколько полипептидов FVII или их части и один или несколько других полипептидов с любым одним или несколькими сигналами управления транскрипции/трансляции, сигнальными последовательностями, меткой для локализации, меткой для очистки, доменом иммуноглобулина G и/или нацеливающим агентом. Химерные полипептиды FVII также включают полипептиды с эндогенными доменами или районами, обмененными с другим полипептидом. Эти химерные или гибридные белки включают белки, полученные с помощью рекомбинантной технологии как гибридные белки, полученные химическими методами белки, например полученные путем химического соединения, например соединения сульфгидрильных групп, белки, полученные с использованием любого другого способа, с помощью которого по меньшей мере один полипептид (т.е. FVII) или его часть связаны прямо или косвенно через линкер(линкеры) с другим полипептидом.

В настоящем документе понятие "функционально связанные" по отношению к гибридному белку относится к протеазе и не протеазе, которые гибридизованы в одной рамке считывания друг с другом. Полипептид, не являющийся протеазой, может быть гибридизован с N-концом или С-концом протеазы.

В настоящем документе "нацеливающий агент" представляет собой любой фрагмент, такой как белок или его активная часть, который обеспечивает специфическое связывание с молекулой клеточной поверхности, такой как рецептор клеточной поверхности, которая в некоторых случаях может интернализовать связанный конъюгат или его часть. Нацеливающий агент также может представлять собой агент, который способствует или облегчает, например, аффинное выделение или очистку конъюгата, прикрепление конъюгата к поверхности или выявление конъюгата или комплекса, содержащего конъюгат.

В настоящем документе "производное" или "аналог" молекулы относится к части молекулы или модифицированной молекуле.

Используемый здесь термин "заболевание или расстройство" относится к патологическим состояниям организма, возникшим в результате факторов или состояний, включающих, но не ограничивающихся, инфекцией, приобретенными состояниями, генетическими состояниями, и характеризующихся идентифицируемыми симптомами. Заболевания и расстройства по настоящему документу включают заболевания и расстройства, затрагивающие коагуляцию, включая опосредованные участвующими в коагуляции белками заболевания и расстройства и заболевания и расстройства, в которых участвующие в коагуляции белки играют важную роль в этиологии и патологии. Заболевания и расстройства также включают вызванные отсутствием белков заболевания и расстройства, такие как гемофилии, при которых коагуляция не происходит из-за дефицита или дефекта белков, такие заболевания и расстройства представляют особый интерес в настоящем документе.

В настоящем документе термин "прокоагулянт" относится к любому веществу, которое способствует свертыванию крови.

В настоящем документе термин "антикоагулянт" относится к любому веществу, которое препятствует свертыванию крови.

В настоящем документе "гемофилия" относится к заболеванию, связанному с кровотечениями, обусловленному дефицитом в крови факторов свертывания. Гемофилия может быть результатом, например, отсутствия, уменьшения экспрессии или снижения функционирования фактора свертывания крови. Наиболее распространенным типом гемофилии является гемофилия А, являющаяся результатом дефицита фактора VIII. Второй по распространенности тип гемофилии представляет собой гемофилию В, являющуюся результатом дефицита фактора IX. Гемофилия С, которую также называют дефицитом FXI, явля-

ется более мягкой и менее распространенной формой гемофилии.

Используемый здесь термин "врожденная гемофилия" относится к типам гемофилии, которые наследуются. Врожденная гемофилия является результатом мутации, удаления, вставки или другой модификации гена фактора свертывания крови, при которых фактор свертывания не образуется, образуется в меньшем количестве или не функционирует. Например, наследственные мутации в генах факторов свертывания крови, таких как фактор VIII и фактор IX, приводят к врожденным гемофилиям, гемофилии A и B соответственно.

В настоящем документе термин "приобретенная гемофилия" относится к типу гемофилии, который развивается в зрелом возрасте в результате образования аутоантител, которые инактивируют FVIII.

Используемый здесь термин "нарушение свертываемости крови" относится к состоянию, при котором у субъекта снижена способность останавливать кровотечения. Нарушения свертываемости крови могут быть наследственными или приобретенными и могут возникнуть в результате, например, дефекта или недостаточности пути коагуляции, дефекта или недостаточности активности тромбоцитов или дефектов сосудов.

В настоящем документе "приобретенное нарушение свертываемости крови" относится к нарушению свертываемости крови, вызванному недостаточностью свертывания вследствие заболевания печени, дефицита витамина K или применения кумадина (варфарина) или другой антикоагулянтной терапии.

В настоящем документе "лечение" субъекта, страдающего заболеванием или состоянием, означает, что полипептид, композиция или другой продукт, предусмотренный в этом документе, вводят субъекту.

В настоящем документе "терапевтический агент", "схема лечения", "радиопротектор" или "химиотерапевтический агент" означают обычные лекарства и лекарственную терапию, включая вакцины, которые известны специалистам в данной области. Радиотерапевтические агенты хорошо известны в уровне техники.

В настоящем документе "лечение" представляет собой любой способ уменьшения или иного благотворного изменения симптомов состояния, расстройства или заболевания. Поэтому лечение включает профилактику, терапию и/или излечение. Лечение также включает любое фармацевтическое использование композиции по настоящему документу. Лечение также включает любое фармацевтическое использование предусмотренных в настоящем документе модифицированных FVII и композиций.

В настоящем документе "улучшение симптомов заболевания или расстройства" посредством лечения, например, фармацевтической композицией или лекарственным средством, относится к любому уменьшению, постоянному или временному, устойчивому или кратковременному, симптомов, связанному с введением или приписываемому введению композиции или лекарственного средства.

В настоящем документе "профилактика" или "предотвращение" относится к способам уменьшения риска развития заболевания или состояния. Профилактика включает уменьшение риска развития заболевания или состояния и/или предотвращение ухудшения симптомов или развития заболевания, или уменьшение риска ухудшения симптомов или развития заболевания.

В настоящем документе "эффективное количество соединения или композиции" для лечения конкретного заболевания представляет собой количество, которое является достаточным для улучшения или любого уменьшения симптомов, связанных с заболеванием. Такое количество может быть введено одной дозой или согласно режиму введения, при котором введение эффективно. Указанное количество может привести к выздоровлению, но обычно приводит к улучшению симптомов заболевания. Обычно для достижения желаемого улучшения симптомов требуются повторные введения.

В настоящем документе "пациент" или "субъект", подвергающийся лечению, включает человека и животных, не представляющих собой человека, в том числе млекопитающих. Млекопитающие включают приматов, таких как люди, шимпанзе, гориллы и низшие приматы; домашних животных, таких как собаки, лошади, кошки, свиньи, козы, коровы; и грызунов, таких как мыши, крысы, хомяки и песчанки.

В настоящем документе "комбинация" относится к любому соединению двух или более элементов. Комбинация может быть пространственной или относится к использованию двух или более элементов для одной цели.

В настоящем документе "композиция" относится к любой смеси двух или более продуктов или соединений (например, агентов, модуляторов, регуляторов, и т.д.). Композиция может представлять собой раствор, суспензию, жидкость, порошок, пасту, водную или неводную рецептуру или их комбинации.

В настоящем документе "изделие" представляет собой продукт, который изготавливается и продается. В настоящем документе термин включает модифицированные протеазы и нуклеиновые кислоты, содержащиеся в упаковке.

В настоящем документе "жидкая композиция" относится к любой композиции, которая может течь. Таким образом, жидкие композиции включают композиции в полужидкой форме, пасты, растворы, водные смеси, гели, лосьоны, кремы и другие подобные композиции.

В настоящем документе "набор" относится к комбинации, помещенной в упаковку, по желанию содержащей реагенты и другие продукты и/или компоненты для осуществления способов по изобретению с помощью элементов комбинации. Например, в настоящем документе предусмотрены наборы, содержащие модифицированные протеазы или молекулы нуклеиновой кислоты по изобретению и еще один

элемент, предназначенный для введения, диагностики или оценки биологической активности или свойства. По желанию, наборы включают инструкции по использованию.

В настоящем документе "антитела" включают фрагменты антител, такие как Fab фрагменты, которые состоят из легкой цепи и вариабельного района тяжелой цепи.

В настоящем документе "рецептор" относится к молекуле, обладающей аффинности к конкретному лиганду. Рецепторы могут быть природными или синтезированными молекулами. Рецепторы могут быть упомянуты как антилиганды.

В настоящем документе "животные" включают любых животных, включая, но не ограничиваясь, приматов, таких как человек, горилла и низшие приматы; грызунов, таких как мыши и крысы; птиц, таких как куры; жвачных животных, таких как козы, коровы, олени, овцы, мелкий домашний скот, такой как свиньи; и других животных. В понятии "не включающие человека животные" люди исключены из числа предусмотренных животных. Предусмотренные здесь протеазы могут происходить из любого источника, включая животных, растения, прокариоты и грибы.

В настоящем документе "генная терапия" включает перенос гетерологичных нуклеиновых кислот, таких как ДНК, в определенные клетки, клетки-мишени млекопитающих, особенно человека, страдающего расстройством или состоянием, для которого известна такая терапия. Нуклеиновые кислоты, такие как ДНК, вводят в выбранные клетки-мишени непосредственно либо в векторе или другом средстве доставки таким образом, что гетерологичные нуклеиновые кислоты, такие как ДНК, экспрессируются и производят таким образом закодированный терапевтический продукт. Альтернативно, гетерологичные нуклеиновые кислоты, такие как ДНК, могут каким-либо образом влиять на экспрессию ДНК, которая кодирует терапевтический продукт, или могут кодировать продукт, такой как пептид или РНК, который каким-либо образом влияет, прямо или косвенно, на экспрессию терапевтического продукта. Генная терапия также может быть использована для доставки нуклеиновой кислоты, кодирующей генетический продукт, который заменяет дефектный ген или дополняет генетический продукт, продуцируемый млекопитающим или клеткой, в которые введена нуклеиновая кислота. Введенная нуклеиновая кислота может кодировать терапевтическое соединение, такое как протеаза или модифицированная протеаза, которые обычно не производятся млекопитающим-хозяином или не производятся в терапевтически эффективных количествах или в терапевтически полезное время.

Гетерологичные нуклеиновые кислоты, такие как ДНК, кодирующие терапевтический продукт, могут быть модифицированы до введения в клетки страдающего хозяина для усиления или иного изменения продукта или его экспрессии. Генетическая терапия также может включать доставку ингибитора, репрессора или другого модулятора экспрессии генов.

В настоящем документе "гетерологичная нуклеиновая кислота" представляет собой нуклеиновую кислоту, которая в нормальных условиях не продуцируется клеткой in vivo, в которой она экспрессируется, или представляет собой нуклеиновую кислоту, которая продуцируется клеткой, но находится в другом локусе, или представляет собой нуклеиновую кислоту, которая иначе экспрессируется, или влияет на экспрессию эндогенных нуклеиновых кислот или кодирует посредник, который изменяет экспрессию эндогенных нуклеиновых кислот, таких как ДНК, путем воздействия на транскрипцию, трансляцию, или другие регулируемые биохимические процессы. Гетерологичная нуклеиновая кислота, как правило, не является эндогенной для клетки, в которую она введена, но такая нуклеиновая кислота может быть получена из другой клетки или получена синтетически. Гетерологичная нуклеиновая кислота может быть эндогенной нуклеиновой кислотой, но экспрессироваться с другого локуса или обладать изменениями в экспрессии. Обычно, но не обязательно, такие нуклеиновые кислоты кодируют РНК и белки, которые обычно не продуцируются клеткой или продуцируются клеткой, в которой экспрессированы нуклеиновые кислоты, иным образом. Гетерологичная нуклеиновая кислота, такая как ДНК, также может быть упомянута как чужеродная нуклеиновая кислота, такая как ДНК. Таким образом, гетерологичные нуклеиновые кислоты или чужеродные нуклеиновые кислоты включают молекулы нуклеиновой кислоты, которые не присутствуют в такой ориентации или позиции, как аналогичная молекула нуклеиновой кислоты, такая как ДНК, присутствующая в геноме. Гетерологичная нуклеиновая кислота также может относиться к молекуле нуклеиновой кислоты из другого организма или вида (т.е. экзогенной нуклеиновой кислоте).

Любая нуклеиновая кислота, такая как ДНК, которую специалист в области техники определяет или рассматривает как гетерологичную или чужеродную для клетки, в которой нуклеиновая кислота экспрессируется, рассматривается здесь как гетерологичная нуклеиновая кислота; гетерологичная нуклеиновая кислота включает экзогенно внесенную нуклеиновую кислоту, которая экспрессируется эндогенно. Примеры гетерологичных нуклеиновых кислот включают, но не ограничиваются, нуклеиновые кислоты, которые кодируют отслеживаемые белки-маркеры, такие как белок, который придает лекарственную устойчивость, нуклеиновые кислоты, которые кодируют терапевтически эффективные вещества, такие как противораковые агенты, ферменты и гормоны, и нуклеиновые кислоты, такие как ДНК, которая кодирует другие типы белков, такие как антитела. Антитела, кодируемые гетерологичными нуклеиновыми кислотами, могут быть секретированы или экспрессированы на поверхности клеток, в которые были введены гетерологичные нуклеиновые кислоты.

В настоящем документе "терапевтически эффективный продукт" в генной терапии представляет собой продукт, который кодируется гетерологичной нуклеиновой кислотой, как правило, ДНК, который при введении нуклеиновой кислоты в хозяина экспрессируется и улучшает или устраняет симптомы и проявления наследственного или приобретенного заболевания или который вылечивает заболевание. Терапевтически эффективный продукт также подразумевает биологически активные молекулы нуклеиновых кислот, такие как интерферирующие и антисмысловые РНК.

В настоящем документе утверждение, что полипептид "состоит в основном" из указанной последовательности аминокислот означает, что только указанная ее часть или ее фрагмент присутствует в полипептиде полной длины. Полипептид, по желанию, как правило, включает дополнительные аминокислоты из другого источника или может быть вставлен в другой полипептид.

В настоящем документе упоминание понятий в единственном числе также включает множественное число, если контекст с очевидностью не указывает на иное. Таким образом, например, упоминание соединения, включающего "внеклеточный домен" относится к соединениям с одним или несколькими внеклеточными доменами.

В настоящем документе диапазоны и количества могут быть обозначены, как конкретные значения или диапазоны с добавлением термина "приблизительно". Термин приблизительно также включает в себя точное значение. Следовательно, "приблизительно 5 оснований" означает "приблизительно 5 оснований", а также "5 оснований".

В настоящем документе термины "по желанию" или "необязательно" означают, что описанные явления или обстоятельства могут иметь место или не иметь места и что описание включает случаи, когда указанное явление или обстоятельство происходит, и случаи, когда это не так. Например, необязательно замещенная группа означает, что группа не является замещенной или является замещенной.

В настоящем документе аббревиатуры для любых защитных групп, аминокислот и других соединений, если не указано иное, употребляются в соответствии с их обычным использованием и являются признанными аббревиатурами или употребляются в соответствии с Комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB (см. (1972) Biochem. U: 1726).

B. Обзор гемостаза.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды фактора VII (FVII). Такие полипептиды FVII модифицированы для увеличения коагулянтной активности. Соответственно, эти полипептиды имеют множество применений и возможностей применения, например, в качестве терапии для изменения гемостаза и других близких биологических процессов. Чтобы оценить предусмотренные в настоящем документе модификации и возможности применения таких модифицированных молекул FVII, необходимо понимание системы свертывания крови и каскада реакций свертывания. Приведенное ниже обсуждение обеспечивает такое понимание и является вступлением к обсуждению фактора VII и его модификаций.

Гемостаз является физиологическим механизмом остановки кровотечения, являющегося результатом повреждения сосудов. Нормальный гемостаз зависит от клеточных компонентов и растворимых белков плазмы и включает ряд сигнальных актов, которые в конечном итоге приводят к образованию сгустков. Процесс коагуляция быстро запускается после травмы, повреждающей кровеносный сосуд и эндотелиальные клетки. В первой фазе свертывания активируются тромбоциты, формирующие гемостатическую пробку в месте повреждения. Вторичный гемостаз происходит с участием факторов коагуляции плазмы, которые действуют в протеолитическом каскаде, приводя к образованию нитей фибрина, которые укрепляют тромбоцитарную пробку. При травме сосуда приток крови непосредственно к травмированному участку ограничен за счет сужения сосуда, что позволяет тромбоцитам прикрепиться к экспонированному фибриллярному коллагену субэндотелиальной соединительной ткани. Адгезия тромбоцитов зависит от фактора фон Виллебранда (vWF), который связывается с эндотелием в течение трех секунд после травмы, тем самым способствуя адгезии и агрегации тромбоцитов. Активация агрегированных тромбоцитов приводит к секреции различных факторов, в том числе АДФ, АТФ, тромбоксана и серотонина. Также высвобождаются молекулы адгезии, фибриноген, фактор Виллебранда, тромбоспондин и фибронектин. Такая секреция способствует дополнительной адгезии и агрегации тромбоцитов, усилению активации тромбоцитов и сужению кровеносных сосудов, а также экспонированию анионных фосфолипидов на поверхности тромбоцитов, которые служат платформами для сборки ферментных комплексов свертывания крови. Тромбоциты изменяют фору, формируя псевдоподии, что еще больше способствует агрегации тромбоцитов, приводящей к рыхлой тромбоцитарной пробке.

Одновременно запускается пептидазный каскад свертывания (каскад коагуляции). Каскад свертывания включает ряд активационных актов, включающих протеолитическое расщепление. В таком каскаде неактивные сериновые протеазы (также называемые зимогенами) превращаются в активные протеазы путем расщепления одной или нескольких пептидных связей, где активированные протеазы затем служат активирующими протеазы для следующей молекулы зимогена в каскаде, что, в конечном счете, приводит к формированию сгустка поперечно-сшитого фибрина. Например, каскад приводит к образованию активированных молекул, таких как тромбин (продукт расщепления протромбина), что еще больше активирует тромбоциты, а также приводит к образованию фибрина в процессе расщепления фибриногена.

Затем фибрин формирует сшитый полимер вокруг тромбоцитарной пробки для стабилизации сгустка. После исправления повреждений фибрин расщепляется фибринолитической системой, основными компонентами которой являются плазминоген и активатор плазминогена тканевого типа (tPA). Оба этих белка были включены в полимеризующийся фибрин, где они взаимодействуют с образованием плазмина, который, в свою очередь, действует на фибрин для растворения образованного сгустка. Во время образования сгустков ингибиторы факторов свертывания также циркулируют в крови для предотвращения образования сгустков вне места повреждения.

Действие системы от травмы до формирования сгустка и последующий фибринолиз описаны ниже.

1. Адгезия и агрегация тромбоцитов.

Свертывание крови активно блокируется при нормальных условиях. Эндотелий сосудов поддерживает расширение кровеносных сосудов, препятствует адгезии и активации тромбоцитов, подавляет коагуляцию, усиливает расщепление фибрина и обладает противовоспалительными свойствами. Клетки эндотелия сосудов секретируют молекулы, такие как оксид азота (NO) и простациклин, которые ингибируют агрегацию тромбоцитов и расширяют кровеносные сосуды. Высвобождение этих молекул активирует растворимую гуанилатциклазу (рГЦ) и цГМФ-зависимую протеинкиназу I (cGKI) и увеличивает уровень циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), что вызывает расслабление гладкой мускулатуры в стенке сосуда. Кроме того, эндотелиальные клетки экспрессируют на поверхности клетки АДФазы, такие как CD39, которые контролируют активацию и агрегацию тромбоцитов путем преобразования АДФ, высвобожденного из тромбоцитов, в адениновые нуклеотиды, ингибирующие тромбоциты. Эндотелий играет важную роль в регуляции ферментов фибринолитического каскада. Эндотелиальные клетки непосредственно содействуют образованию плазмина через экспрессию рецепторов плазминогена (аннексина II) и урокиназы, а также через секрецию активатора плазминогена тканевого типа и урокиназного активатора плазминогена, все они способствуют растворению сгустка. Эндотелиальные клетки также играют активную роль в подавлении свертывания через образование гепарансульфата, который увеличивает кинетику ингибирования тромбина и других факторов свертывания крови антитромбином III.

При острой сосудистой травме, однако, сосудосуживающие механизмы преобладают и эндотелий приобретает протромботический, прокоагулянтный и провоспалительный характер. Это достигается за счет уменьшения количества эндотелиальных расширяющих агентов: аденозина, NO и простациклина, а также прямым действием АДФ, серотонина и тромбоксана на гладкомышечные клетки сосудов, что вызывает их сокращение (Becker, Heindl и др., 2000). Главным толчком к изменению функции эндотелия, который приводит к формированию гемостатического тромба, является потеря эндотелиального барьера между кровью и компонентами внеклеточного матрикса (ECM) (Ruggeri (2002) Nat Med 8:1227-1234). Циркулирующие тромбоциты выявляют и различают зоны поражения эндотелия и прикрепляются к экспонированному субэндотелию. Их взаимодействие с различными тромбогенными субстратами и локально образованными или высвобожденными агонистами приводит к активации тромбоцитов. Этот процесс описывают как включающий два этапа: 1) прикрепление - начальное связывание с поверхностью и 2) агрегацию - склеивание тромбоцитов друг с другом (Savage и др., (2001) Curr Opin Hematol 8:270-276).

Адгезия тромбоцитов начинается, когда циркулирующие тромбоциты связываются с экспонированным коллагеном через взаимодействие со связывающими коллаген белками на поверхности клеток и через взаимодействие с фактором Виллебранда, присутствующим на эндотелии. Фактор Виллебранда представляет собой белок мультимерной структуры и переменного размера, секретируемый эндотелием в двух направлениях: базолатерально и в кровоток. Фактор Виллебранда также связывается с фактором VIII, что играет важную роль в стабилизации фактора VIII и его существовании в крови.

Адгезия и последующая активация тромбоцитов достигаются при связывании фактора Виллебранда через домен A1 с GPIb (часть гликопротеинового рецепторного комплекса тромбоцитов GPIB-IX-V). Взаимодействие между фактором Виллебранда и GPIb регулируется поперечной силой, так что увеличение поперечного натяжения приводит к соответствующему увеличению аффинности фактора Виллебранда к GPIb.

Интегрин $\alpha 1\beta 2$, также известный как белок VLA-2 на лейкоцитах, является главным рецептором коллагена тромбоцитов, и связывание с этим рецептором генерирует внутриклеточные сигналы, которые способствуют активации тромбоцитов. Связывание $\alpha 1\beta 2$ облегчает связывание с рецепторами коллагена низкой аффинности GP VI. Указанные рецепторы являются частью суперсемейства иммуноглобулинов и генерируют самый мощный внутриклеточный сигнал активации тромбоцитов. Активация тромбоцитов приводит к высвобождению аденозиндифосфата (АДФ), который превращается в тромбоксан A1.

Активации тромбоцитов также приводит к экспрессии на поверхности тромбоцитов гликопротеина рецептора IIB-IIIa (GP IB-IIIa), также известного как интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ Рецепторы GP IIB-IIIa позволяют тромбоцитам присоединяться друг к другу (агрегировать) за счет молекул фибриногена, связывающих тромбоциты через рецепторы. Это приводит к образованию тромбоцитарной пробки на месте повреждения, что способствует предотвращению дальнейшей потери крови, а поврежденные ткани сосудов высвобождают факторы, которые запускают каскад коагуляции и образование стабилизированной фибриновой сетки вокруг тромбоцитарной пробки.

2. Каскад свертывания.

Коагуляционный путь представляет собой протеолитический путь, в котором каждый фермент присутствует в плазме в виде зимогена, неактивной формы. Расщепление зимогена приводит к образованию активной формы из молекулы-предшественника. Кофакторы активированных протеаз, такие как гликопротеины FVIII и FV, также активируются в каскаде реакций и играют важную роль в формировании сгустка. Коагуляционный путь функционирует как система положительных и отрицательных обратных связей, которые контролируют процесс активации, где конечной целью пути является образование тромбина, который затем может превращать растворимый фибриноген в фибрин с образованием сгустка. Факторы коагуляции, как правило, обозначают римскими цифрами со строчной буквой "a" для указания активированной формы. В табл. 3 ниже приведен примерный перечень факторов, включая их общепринятое название и роль в свертывании. Как правило, указанные белки участвуют в свертывании крови по одному или нескольким путям, таким как внутренний, внешний или общий пути свертывания (см. фиг. 1). Как будет показано ниже, эти пути взаимосвязаны, и свертывание крови, как полагают, происходит по клеточной модели, а активация фактора VII (FVII) является основным инициатором свертывания.

Таблица 3

Факторы коагуляции

Фактор	Тривиальное название	путь	характеристика
I	Фибриноген	Оба	-
II	Протромбин	Оба	Содержит N-концевой домен Gla
III	Тканевый фактор	Внешний	-
IV	Кальций	Оба	-
V	Проакцелерин, лабильный фактор, акцелератор-глобулин	Оба	Белковый фактор
VI (VIa)	Акцелерин	-	(Является фактором V)
VII	Проконвертин, сывороточный ускоритель предвращения тромбина, котромбопластин	Внешний	Эндопептидаза с доменом Gla
VIII	Антигемофильный фактор А, антигемофильный глобулин	Внутренний	Белковый фактор
IX	Кристмас-фактор, антигемофильный фактор В, плазменный компонент тромбопластина	Внутренний	Эндопептидаза с доменом Gla
X	Фактор Стюарта-Прауэра	Оба	Эндопептидаза с доменом Gla
XI	Плазменный предшественник тромбопластина	внутренний	Эндопептидаза
XII	Фактор Хагемана	внутренний	Эндопептидаза
XIII	Протрансглутамидаза, стабилизирующий фибрин фактор, фибринолигаза	Оба	Транспептидаза

* Таблица адаптирована из M.W. King (2006) на med.unibs.it/~Marchesi/blood.html

Образование тромбина исторически было разделено на три пути, внутренний (в предположении, что все компоненты пути содержит плазма), внешний (в предположении, что один или более компонентов пути являются внешними по отношению к плазме) пути, которые обеспечивают альтернативные маршруты образования активированного фактора X (FXa), и окончательный общий путь, приводящий к образованию тромбина (фиг. 1). Эти пути вместе участвуют во взаимосвязанном и взаимозависимом процессе, приводящем к свертыванию. Была разработана клеточная модель коагуляции, описывающая эти пути (фиг. 2) (Hoffman и др. (2001) Thromb Haemost 85:958-965). В этой модели "внешний" и "внутренний" пути осуществляются на различных клеточных поверхностях, несущей тканевый фактор (ТФ) клетке и тромбоците соответственно. Процесс коагуляции разделен на отдельные фазы, инициацию, усиление и распространение, в ходе которых внешний и внутренний пути функционируют на различных этапах для получения большого количества тромбина, необходимого для преобразования достаточного количества фибриногена в фибрин для образования сгустка.

a. Инициация.

FVII считают фактором свертывания, отвечающим за инициацию каскада свертывания, которая зависит от его взаимодействия с ТФ. ТФ является трансмембранным гликопротеидом, экспрессируемым в различных клетках, таких как гладкомышечные клетки, фибробласты, моноциты, лимфоциты, гранулоциты, тромбоциты и эндотелиальные клетки. Миелоидные клетки и эндотелиальные клетки экспрессируют ТФ только при стимулировании, например, провоспалительными цитокинами. Гладкомышечные клетки и фибробласты, однако, экспрессируют ТФ конститутивно. Соответственно, как только эти клетки вступают в контакт с кровотоком после повреждения тканей, свертывание быстро инициируется связыванием ТФ с фактором VII или FVIIa в плазме.

Как будет показано ниже, большая часть FVII в крови присутствует в зимогенной форме с небольшим количеством, примерно составляющим 1%, присутствующим в виде FVIIa. Однако в отсутствие связывания с ТФ даже FVIIa обладает зимогеноподобными характеристиками и не проявляет значительную активность, пока не образует комплекс с ТФ. Таким образом, FVII плазмы требует для полноценной активности протеолитического расщепления, а также дополнительных конформационных изменений при взаимодействии с ТФ. Было показано, что ряд протеаз, в том числе факторы IXa, Xa, XIIa и тромбин, способны расщеплять FVII in vitro, этот процесс ускоряется в присутствии ТФ. FVIIa также может активировать FVII в присутствии ТФ, этот процесс называется самоактивацией. Небольшие количества FVIIa присутствуют в крови, вероятно, из-за активации фактором FXa и/или FIX (Wildgoose и др., (1992) Blood 80:25-28, и Butenas и др. (1996) Biochemistry 35:1904-1910). Комплексы ТФ/FVIIa могут, таким образом, быть сформированы прямым связыванием FVIIa с ТФ или связыванием FVII с ТФ и последующей активацией FVII в FVIIa протеазой плазмы, такой как FXa, FIX, FXIIa или сам FVIIa. Комплекс ТФ/FVIIa остается связанным с несущей ТФ клеткой, где он активирует небольшие количества FX с образованием FXa в так называемом "внешнем пути" коагуляции.

Комплекс ТФ/FVIIa также расщепляет небольшие количества FIX с образованием FIXa. FXa ассоциирует со своим кофактором FVa с образованием комплекса на несущей ТФ клетке, который затем может превращать протромбин в тромбин. Образуется небольшое количество тромбина, которого, однако, недостаточно для поддержания необходимого уровня образования фибрина для полного свертывания.

Кроме того, активные FXa и FIXa ингибируются в кровотоке антитромбином III (AT-III) и другими серпинами, которые описаны более подробно ниже. Это, как правило, предотвращает свертывание крови в кровотоке. При наличии травмы, однако, повреждение сосуда приводит к агрегации тромбоцитов и активации в этом месте образования тромбина, что приводит к усилению коагуляционного сигнала.

b. Усиление.

Усиление происходит, когда тромбин связывается с тромбоцитами и активирует их. Активированные тромбоциты высвобождают FV из альфа-гранул, который активируется тромбином с образованием FVa. Тромбин также высвобождает и активирует FVIII из FVIII/vWF комплекса на мембране тромбоцитов и расщепляет FXI в FXIa. Эти реакции приводят к активированным тромбоцитам с FVa, FVIIIa и FIXa на поверхности, которые представляют собой основу для стремительного увеличения количества тромбина на этапе распространения.

c. Распространение.

Распространение коагуляции происходит на поверхности большого количества тромбоцитов в месте повреждения. Как описано выше, активированные тромбоциты несут FXIa, FVIIIa и FVa на своей поверхности. Именно здесь осуществляется внешний путь свертывания. FXIa активирует FIX с образованием FIXa, который затем может связаться с FVIIIa. Этот процесс вместе с образованием небольшого количества FIXa при расщеплении закрепленного на несущей ТФ клетке ТФ/FVIIa комплекса приводит к большому количеству FXIa/FVIIIa комплексов, которые, в свою очередь, могут активировать значительное количество FX с образованием FXa. Молекулы FXa связываются с FVa с образованием протромбиназных комплексов, которые активируют протромбин в тромбин.

Тромбин действует в положительной обратной связи, активируя еще больше тромбоцитов и снова инициируя процессы, описанные для фазы усиления.

Очень быстро накапливается достаточное количество активированных тромбоцитов с соответствующими комплексами для создания большого количества тромбина, которого достаточно для получения достаточного количества фибрина из фибриногена для формирования сгустка фибрина. Фибриноген представляет собой растворимый в плазме димер, который при расщеплении тромбином высвобождает фибринопептид A и фибринопептид B. Фибринопептид B затем расщепляется тромбином, и полученные в результате второго протеолитического расщепления мономеры фибрина спонтанно формируют нерастворимый гель. Полимеризованный фибрин удерживается нековалентными и электростатическими силами и стабилизируется трансамидирующим ферментом фактором XIIIa (FXIIIa), образованным при расщеплении FXIII тромбином. Тромбин также активирует TAFI, который ингибирует фибринолиз за счет уменьшения образования плазмина на поверхности сгустка. Кроме того, тромбин сам включается в структуру сгустка для дальнейшей стабилизации. Описанные нерастворимые агрегаты фибрина (сгустки) вместе с агрегированными тромбоцитами (тромбы) блокируют поврежденный кровеносный сосуд и предотвращают дальнейшее кровотечение.

3. Регуляция свертывания.

Во время свертывания каскад регулируется конститутивными и стимулированными процессами, ингибирующими дальнейшее формирование сгустка. Для наличия таких регулирующих механизмов существует несколько причин. Во-первых, регуляция необходима для ограничения ишемии тканей при формирования сгустка фибрина. Во-вторых, регуляция предотвращает распространение тромбоза, ограничивая образование сгустка только местом повреждения тканей.

Регуляция достигается за счет нескольких ингибиторных молекул. Например, антитромбин III (AT-III) и ингибитор пути тканевого фактора (TFPI) конститутивно ингибируют факторы каскада свертывания. AT-III ингибирует тромбин, FIXa и FXa, в то время как TFPI ингибирует FXa и FVIIa/ТФ комплекс.

Дополнительный фактор белок С, который стимулируется активацией тромбоцитов, регулирует коагуляцию путем протеолитического расщепления и инактивации FVa и FVIIIa. Белок S повышает активность белка С. Кроме того, еще одним фактором, который способствует ингибированию коагуляции, является интегральный мембранный белок тромбомодулин, который образуют эндотелиальные клетки сосудов и который служит в качестве рецептора для тромбина. Связывание тромбина с тромбомодулином ингибирует прокоагулянтную активность тромбина, а также способствует активации белка С.

Фибринолиз, разрушение фибринового сгустка, также представляет собой механизм регуляции свертывания. Сшитые мультимеры фибрина в сгустке разрушаются до растворимых полипептидов плазмином, сериновой протеазой. Плазмин может быть получен из его неактивного предшественника плазминогена и привлечен к фибриновому сгустку двумя способами: за счет взаимодействия с тканевым активатором плазминогена (tPA) на поверхности фибринового сгустка и за счет взаимодействия с урокиназным активатором плазминогена (УАП) на клеточной поверхности. Полагают, что первый механизм является основным механизмом, ответственным за растворение тромбов в кровеносных сосудах. Второй механизм, способный опосредовать растворение сгустка, может также играть важную роль в перестройке ткани, миграции клеток и воспалении.

Растворение сгустка также регулируется двумя путями. Во-первых, эффективная активация плазмина и фибринолиз происходят только в комплексах, образованных на поверхности сгустка или на клеточной мембране, в то время как свободные белки в крови являются неэффективными катализаторами и быстро инактивируются. Во-вторых, активаторы плазминогена и плазмин инактивируются такими молекулами, как ингибитор активатора плазминогена 1 типа (PAI-1) и PAI-2, которые действуют на активаторы плазминогена, и такими как α2-антиплазмин и α2-макроглобулин, которые инактивируют плазмин. При нормальных обстоятельствах временной баланс между коагуляцией и фибринолизом приводит к эффективному формированию и растворению сгустков после повреждения сосудов, одновременно предотвращая нежелательные случаи тромбообразования или кровотечения.

Краткое описание примеров факторов свертывания крови, кофакторов и регуляторных белков и их активности приведены в табл. 4 ниже.

Таблица 4

Зимогены факторов свертывания и кофакторы

Название фактора	**Активность**
Зимогены сериновых протеиназ	
Фактор XII	Связывает экспонированный коллаген в месте повреждения стенки сосуда, активируется кининогеном высокой молекулярной массы и калликреином.
Фактор XI	Активируется фактором XIIa
Фактор IX	Активируется фактором XIa + Ca^{2+}
Фактор VII	Активируется тромбином, фактором X, фактором IXa, XIIa + Ca^{2+} или автоактивацией.
Фактор X	Активируется на поверхности тромбоцитов теназным комплексом (FIXa/FVIIIa); также активируется фактором VIIa + тканевый фактор + Ca^{2+} или VIIa + Ca^{2+}
Фактор II	Активируется на поверхности тромбоцитов протромбиназным комплексом (FXa/FVa)
Кофакторы	
Фактор VIII	Активируется тромбином, FVIIIa служит кофактором фактора IXa при активации фактора X
Фактор V	Активируется тромбином, фактор Va служит кофактором фактора Xa при активации протромбина
Фактор III (тканевый фактор)	Служит кофактором фактора VIIa
Фибриноген	
Фактор I (фибриноген)	Расщепляется тромбином с образованием фибрина
Трансглутаминаза	
Фактор XIII	Активируется тромбином + Ca^{2+}; осуществляет ковалентное поперечное сшивание фибрина
Регуляторные и другие белки	
Фактор фон Виллебранда (vWF)	Служит мостом между GPIb-V-IX комплексом и коллагеном
Белок С	Активируется при связывании тромбина с тромбомодулином, Са расщепляет факторы VIIIa и Va
Белок S	Служит кофактором фактора С
Тромбомодулин	Белок поверхности эндотелиальных клеток, связывает тромбин, что активирует белок С

Антитромбин III	Ингибирует свертывание, прежде всего тромбин и фактор Xa, но также факторы IXa, XIa и VIIa, и VIIa в комплексе с ТФ
Ингибитор пути тканевого фактора (TFPI)	Связывает фактор Xa и образует четвертичную структуру с ТФ/FVIIa для ингибирования ТФ/FVIIa

* Таблица адаптирована из M.W. King (2006) med.unibs.it/~Marchesi/blood.html

C. Фактор VII (FVII).

Фактор VII представляет собой витамин K-зависимую сериновую протеазу, гликопротеин, который синтезируется у животных, включая млекопитающих, в виде одноцепочечного зимогена в печени и выделяется в кровь. Как описано выше, FVII является протеазой, участвующей в свертывании крови, ответственной за инициирование каскада протеолитических событий, которые приводят к образованию тромбина и фибрина. Фактор VII является частью внешнего пути, хотя продукты его активности также в значительной степени влияют на внутренний путь. Его интегральная роль в формировании сгустка привлекла значительный интерес к FVII в качестве мишени для клинической антикоагулянтной и гемостатической терапии. Например, рекомбинантный активированный FVII (rFVIIa) был разработан как гемостатический агент для лечения гемофилических субъектов и субъектов с другими состояниями, связанными с кровотечением. В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, которые обладают увеличенной коагулянтной активностью после активации и которые могут служить улучшенным лекарственным средством для лечения заболеваний и состояний, поддающихся лечению фактором VII.

1. Структура и организация FVII.

Человеческий ген FVII (F7) находится на хромосоме 13 в 13q34 и составляет 12,8 тпн в длину с 9 экзонами. Ген FVII обладает значительным сходством организации с генами, кодирующими другие витамин K-зависимые белки, такие как протромбин, фактор IX, фактор X и белок C. мРНК FVII претерпевает альтернативный сплайсинг с образованием двух транскриптов: вариант 1 (последовательность Genbank № NM_000131, приведенная в SEQ ID NO: 81) и вариант 2 (последовательность Genbank NM_019616, приведенная в SEQ ID NO: 82). Вариант 2 транскрипта, который является более распространенной формой в печени, не включает экзон 1b и, таким образом, кодирует короткий предшественник полипептида из 444 аминокислот (изоформа предшественника FVII B; SEQ ID NO: 2) по сравнению с полипептидом-предшественником, включающим 466 аминокислот, кодируемым вариантом 1 транскрипта (изоформа предшественника FVII A; SEQ ID NO: 1). Аминокислоты, которые не представлены в изоформе B предшественника полипептида FVII, соответствуют аминокислотным позициям с 22 по 43 изоформы A предшественника FVII. Эти аминокислоты являются частью пропептидной последовательности, что приводит к усеченному пропептиду в изоформе B FVII. Полипептиды-предшественники состоят из следующих сегментов и доменов: гидрофобного сигнального пептида (аминокислоты 1-20 из SEQ ID NO: 1 и 2), пропептида (аминокислоты 21-60 из SEQ ID NO: 1, аминокислоты 21-38 из SEQ ID NO: 2), домена Gla (аминокислоты 39-83 из SEQ ID NO: 2, аминокислоты 61-105 из SEQ ID NO: 1), домена эпидермального фактора роста типа B (EGF-подобный домен 1, аминокислоты 84-120 из SEQ ID NO: 2, аминокислоты 106-142 из SEQ ID NO: 1), домена эпидермального фактора роста типа A (EGF-подобный домен 2, аминокислоты 125-166 из SEQ ID NO: 2, аминокислоты 147-188 из SEQ ID NO: 1) и домена сериновой протеазы (аминокислоты 191-430 из SEQ ID NO: 2, аминокислоты 213-452 из SEQ ID NO: 1). Включающая 406 аминокислот зрелая форма полипептида FVII (SEQ ID NO: 3) не включает сигнальный пептид и пропептидную последовательность и является идентичной по длине и последовательности независимо от изоформы предшественника, из которой возникла зрелая форма. В зрелой форме полипептида FVII вышеупомянутым доменам соответствуют следующие аминокислотные позиции: домен Gla (аминокислоты 1-45 из SEQ ID NO: 3), EGF-подобный домен 1 (аминокислоты 46-82 из SEQ ID NO: 3), EGF-подобный домен 2 (аминокислоты 87-128 из SEQ ID NO: 3) и домен сериновой протеазы (аминокислоты 153-392 из SEQ ID NO: 3).

Домен Gla из FVII является связывающим мембрану мотивом, который в присутствии ионов кальция взаимодействует с фосфолипидами мембраны, которые включают фосфатидилсерин. Домен Gla также играет роль в связывании кофактора FVIIa, тканевого фактора (ТФ). В комплексе с ТФ домен Gla из FVIIa связывает семь ионов Ca^{2+}, выпускает три гидрофобных боковых цепи в направлении клеточной мембраны для взаимодействия с фосфолипидами на поверхности клеток и образует значительный контакт с C-концевым доменом ТФ. Gla домены консервативны среди витамин K-зависимых белков, таких как протромбин, факторы свертывания крови VII, IX и X, белки C, S и Z. Этим белкам требуется витамин K для пост-трансляционного синтеза γ-карбоксиглутаминовой кислоты, сосредоточенной в N-концевом домене Gla этих белков. Все остатки глутаминовой кислоты в этом домене являются потенциальными сайтами карбоксилирования, и многие из них являются модифицированными путем карбоксилирования.

В дополнение к домену Gla зрелый белок FVII также содержит два EGF-подобных домена. Первый EGF-подобный домен (EGF-подобный домен 1 или EGF1) является связывающим кальций доменом EGF, в котором шесть консервативных цистеинов кора образуют три дисульфидных моста. Домен EGF1 из

FVII связывает только один ион Ca^{2+}, но со значительно более высокой аффинностью, чем домен Gla (Banner и др., (1996) Nature 380:41-46). Связывание иона Ca^{2+} способствует сильному взаимодействию между доменом EGF1 из FVII и ТФ (Osterlund и др., (2000) Eur. J. Biochem. 267:6204-6211). Второй EGF-подобный домен (EGF-подобный домен 2 или EGF2) не является связывающим кальций доменом, но также образует 3 дисульфидных моста. Как и другие домены FVII EGF2, домен взаимодействует с ТФ. EGF2 домен также образует дисульфидную связь с протеазным доменом, с которым он обладает большой поверхностью контакта. Наконец, домен сериновой протеазы FVII является доменом, ответственным за протеолитическую активность FVIIa. Последовательность аминокислот каталитического домена FVII обладает высокой идентичностью последовательности и сходством третичной структуры с другими сериновыми протеазами, такими как трипсин и химотрипсин (Jin и др., (2001) J. Mol. Biol., 307: 1503-1517). Например, указанные сериновые протеазы обладают общей каталитической триадой H57, D102, S195 по нумерации химотрипсина. В отличие от других сериновых протеаз, однако, расщепления FVIIa не достаточно для полного преобразования зимогена в полностью активный фермент. Вместо этого, как указано ниже, FVIIa аллостерически активируется при связывании с ТФ рецептором на поверхности клетки, который индуцирует конформационные изменения в протеазном домене FVIIa, переводя его из зимогеноподобного неактивного состояния в каталитически активный фермент. Район, включающий спираль и петлю, расположенный между сайтом связывания кофактора и активным сайтом FVIIa (т.е. аминокислотные остатки 305-321, соответствующие аминокислотным остаткам 163-170 по нумерации химотрипсина), важен для аллостерической регуляции и зимогенности FVIIa (Persson и др. (2004) Biochem. J., 379: 497-503). Указанный район состоит из короткой α-спирали (аминокислотные остатки с 307 по 312) и следующей за ней петли. N-концевая часть спирали формирует часть поверхности контакта между протеазным доменом и ТФ и содержит множество остатков, которые важны для протеазной активности и связывания ТФ. Сравнение кристаллической структуры FVIIa и FVIIa в комплексе с ТФ указывает, что α-спираль претерпевает значительные конформационные изменения при связывании FVIIa с ТФ. α-Спираль FVIIa без ТФ деформирована, укорочена и иначе ориентирована. Напротив, α-спираль FVIIa в комплексе с ТФ стабилизирована, и соседние петли расположены ближе к активному центру. В указанной стабилизации участвует, по меньшей мере, метионин в позиции 306 FVII (аминокислотный остаток Met^{164} по нумерации химотрипсина) (Pike и др. (1999) PNAS 8925-8930).

2. Пост-трансляционные модификации.

Полипептид-предшественник FVII (либо изоформа гена фактора VII) направляется по секреторному клеточному пути за счет гидрофобного сигнального пептида, который проникает в эндоплазматический ретикулум (ЭР), чтобы начать перемещение через мембрану. В процессе перемещения белка через мембрану ЭР включающий 20 аминокислот сигнальный пептид отщепляется сигнальной пептидазой в просвете ЭР, после чего полипептид подвергается дальнейшим пост-трансляционным модификациям, в том числе N- и O-гликозилированию, витамин K- зависимому карбоксилированию N-концевых остатков глутаминовой кислоты в γ-карбоксиглутаминовую кислоту и гидроксилированию аспарагиновой кислоты в β-гидроксиаспарагиновую кислоту.

Пропептид содержит сайт связывания витамин K-зависимой карбоксилазы, которая распознает амфипатическую α-спираль в пропептиде FVII из 10 остатков. После связывания карбоксилаза γ-карбоксилирует 10 остатков глутаминовой кислоты в домене Gla полипептида FVII с образованием γ-карбоксиглутамильных остатков в положениях E66, E67, E74, E76, E79, E80, E85, E86, E89 и E95 аминокислотной последовательности предшественника FVII, приведенной в SEQ ID NO: 2. Эти положения соответствуют положениям E6, E7, E14, E19, E20, E25, E26, E29 и E35 последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3. Для оптимальной активности молекулам FVII требуется кальций, который связывается полипептидом и облегчает конформационные изменения, необходимые для связывания FVIIa с ТФ и липидами. γ-Карбоксилированный домен Gla связывает семь ионов Ca с различной аффинностью, что индуцирует конформационные изменения, позволяющие домену Gla взаимодействовать с C-концевым доменом ТФ, а также фосфатидилсеринами или другими отрицательно заряженными фосфолипидами на мембране тромбоцитов.

N-гликозилирование осуществляется путем переноса фрагмента $Glc_3Man_9(GlcNAc)$ на два остатка аспарагина в полипептиде FVII в позициях, которые соответствуют аминокислотным остаткам 145 и 322 зрелого белка (SEQ ID NO: 3). O-гликозилирование претерпевают аминокислотные остатки 52 и 60 зрелого полипептида и гидроксилированная в β-гидроксиаспарагиновая кислота, находящаяся в положении остатка аспарагиновой кислоты 63. Указанные O-гликозилированные сериновые остатки и остаток β-гидроксилированной аспарагиновой кислоты находятся в EGF-1 домене FVII. Указанные модификации осуществляются в ЭР и комплексе Гольджи перед окончательным процессингом полипептида в его зрелую форму.

3. Процессинг FVII.

Модифицированный про-FVII полипептид транспортируется через просвет Гольджи к транс-Гольджи компартменту, где пропептид отщепляется пропептидазой непосредственно перед секрецией белка из клетки. PACE/фурин (где PACE является аббревиатурой от термина "фермент, расщепляющий

пары основных аминокислот") является эндопептидазой, локализованной в мембране Гольджи, которая расщепляет многие белки с карбоксиконцевой стороны последовательности Arg-[любой остаток]-(Lys или Arg)-Arg. Эта пропептидаза расщепляет витамин K-зависимые гликопротеины, такие как полипептиды профактора IX и про-vWF (Himmelspach и др., (2000) Thromb Research 97; 51-67), отделяя пропептид от зрелого белка. Включение соответствующего сайта распознавания PACE/фурина в предшественника рекомбинантного фактора VII способствует правильному процессингу и секреции рекомбинантного полипептида (Margaritas и др., (2004) Clin. Invest. 113(7): 1025-1031). PACE/фурин или другая субтилизин-подобная пропептидаза, вероятно, ответственна за протеолитическое превращение про-FVII в FVII. Пропептидаза может распознавать и связывать -Arg-Arg-Arg-Arg- консенсусный мотив, соответствующий аминокислотным позициям 35-38 в последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 1, и позициям 57-60 в последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 2, и, отщепляя пропептид, освобождать зрелый белок для секреции.

4. Активация FVII.

Большая часть FVII в крови находится в виде неактивированного одноцепочечного зимогена, хотя его небольшое количество присутствует в двухцепочечной активированной форме. Активация FVII происходит за счет протеолитического расщепления связи Arg^{152}-Ile^{153} (позиции в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3), что приводит к двухцепочечному полипептиду, содержащему 152 аминокислоты в легкой цепи (примерно 20 кДа), связанной дисульфидным мостом с тяжелой цепью из 254 аминокислот (примерно 30 кДа). Легкая цепь FVIIa содержит домен Gla и EGF-подобный домен, в то время как тяжелая цепь содержит каталитический домен или домен сериновой протеазы. Превращение одноцепочечного FVII в двухцепочечный FVIIa происходит за счет расщепления FIXa, FXa, FXIIa, тромбином или автокаталитически эндогенным FVIIa (Butenas и др., (1996) Biochem 35:1904-1910;. Nakagaki и др., (1991) Biochem 30:10819-10824). Небольшое количество FVIIa, которое присутствует в кровотоке, вероятно, возникает под действием FXa и FIXa.

Как уже говорилось выше, расщепление зимогенной формы FVII с образованием FVIIa не является достаточным для полноценной активности. FVIIa требует наличия ТФ для полноценной активности (Higashi и др., (1996) J. Biol. Chem. 271:26569-26574). Из-за этого FVIIa без ТФ приписывали зимогеноподобные черты, включая зимогенные фолдинг и форму и относительно низкую активность. Указанные зимогеноподобные свойства FVIIa в отсутствие его связи с ТФ делают его относительно устойчивым к антитромбину III (AT-III) и другим серпинам, которые обычно действуют в основном на активные формы сериновых протеаз, а не на зимогенные формы. Кроме того, TFPI, главный ингибитор ТФ/FVIIa активности, также эффективно не связывает "неактивную" форму FVIIa, не образовавшую комплекс с ТФ.

При образовании комплекса с ТФ FVIIa претерпевает конформационные изменения, что приводит к молекуле с полной активностью. Все домены FVII участвуют во взаимодействии с ТФ, но конформационные изменения происходят в протеазном домене FVIIa. Например, конформационные изменения, которые происходят при аллостерическом взаимодействии FVIIa с ТФ, включают создание протяженного экзосайта связывания высокомолекулярного субстрата. Указанный протяженный сайт связывания значительно усиливает протеолитическую активацию фактора X белком FVII. Активность FVIIa дополнительно увеличивается (в тысячу раз) при взаимодействии FVIIa с поверхностью экспрессирующей ТФ клетки. Это происходит за счет того, что фосфолипиды мембран, включающие отрицательно заряженные фосфолипиды, такие как фосфатидилсерин, являются местом взаимодействия других витамин K-зависимых факторов свертывания крови, таких как FIX и FX, которые связываются с мембраной с помощью своих доменов Gla. Это приводит к высокой локальной концентрация указанных витамин K-зависимых белков на поверхности клеток, способствуя их взаимодействию с комплексом ТФ/FVIIa.

5. Активность FVII.

Хотя FVIIa проявляет увеличенную активность после аллостерической активации фактором ТФ, есть доказательства того, что существуют механизмы, в которых свободный FVIIa может инициировать коагуляцию. Следовательно, FVII может функционировать как ТФ-зависимо, так и ТФ-независимо. Последний путь может играть значительно меньшую роль в нормальном гемостазе, хотя его значение может возрасти в контексте нарушений свертываемости крови и их лечения.

a. Зависимая от тканевого фактора активность FVIIa.

Циркулирующий в крови FVII связывает ТФ на поверхности клетки и активирует FIXa, FXa, тромбин или автокаталитически активирует эндогенный FVIIa, как описано выше. Кроме того, очень небольшое количество циркулирующего FVIIa может непосредственно связать ТФ. ТФ/FVIIa комплекс затем связывает небольшую часть FX плазмы, и каталитический домен FVIIa расщепляет FX с образованием FXa. Таким образом, тромбин формируется во внешнем пути на поверхности несущих ТФ клеток, когда FXa образует комплекс с FVa и активирует протромбин в тромбин (фиг. 3). FIX также активируется ТФ/FVIIa комплексом, что обеспечивает связь с внутренним путем, который действует на поверхности активированных тромбоцитов. Положительная обратная связь в описанном выше каскаде свертывания представляет собой средство, с помощью которого производится большое количество тромбина, который расщепляет фибриноген в фибрин с формированием сгустка.

b. Не зависимая от тканевого фактора активность FVIIa.

В дополнение к ТФ-зависимому механизму активации FX в FXa существуют доказательства того, что FVIIa также может активировать FX в отсутствие ТФ. Активированные тромбоциты перемещают фосфатидилсерины и другие отрицательно заряженные фосфолипиды на внешнюю, обращенную к плазме поверхность мембраны (Hemker и др., (1983) Blood Cells 9:303-317). Это обеспечивает альтернативные "рецепторы", через которые может связаться FVIIa, хотя и с относительно низкой аффинностью, которая в 1000 раз меньше, чем аффинность FVIIa к ТФ (Monroe и др., (1997) Br. J. Haematol. 99:542-7). Это взаимодействие опосредовано остатками в домене Gla (Harvey и др., (2003). 278:8363-8369). FVIIa может превращать FX в FXa и FIX в FIXa на поверхности активированных тромбоцитов (Hoffman и др., (1998) Blood Coagul Fibrinolysis 9:S61-S65). FXa остается связанным с поверхностью тромбоцитов, где он может связаться с FVa для образования достаточного количества тромбина из протромбина, а вновь образованный FIXa соединяется с FVIIIa и стимулирует активацию большего количества FX в FXa (фиг. 3). Гемостаз в отсутствие ТФ может быть достигнут за счет положительной обратной связи и механизмов распространения свертывания, описанных выше. Однако следует отметить, что, хотя FVIIIa вносит вклад в процесс коагуляции на активированных тромбоцитах, его наличие не требуется для образования тромбина в ТФ-независимом механизме (фиг. 3). Таким образом, есть доказательства того, что в отсутствие фактора VIII, например, у больных гемофилией, FVIIa может инициировать и/или усиливать образование тромбина через этот вторичный механизм и может привести к формированию сгустка.

6. FVII как лекарственный препарат.

FVII инициирует свертывание крови. Рекомбинантный FVIIa (Novoseven®; rFVIIa) предназначен для лечения кровотечений или профилактики кровотечений при хирургических или инвазивных процедурах у пациентов с гемофилией А или В с ингибиторами фактора VIII или фактора IX, а также у пациентов с врожденным дефицитом фактора VII. Novoseven® является генно-инженерным фактором VIIa, который производится в системе экспрессии клеток млекопитающих с использованием клеток почки детеныша хомяка (ВНК).

Агент почти идентичен фактору VIIa плазмы по структуре и функциям (Ratko и др., (2004), P & T, 29: 712-720).

Было показано, что введение рекомбинантного FVIIa (rFVIIa) приводит к свертыванию крови у пациентов, страдающих гемофилией, и что лечение введением FVIIa безопасно и хорошо переносится человеком. Как правило, rFVIIa использовали для лечения пациентов, которые вырабатывают ингибиторы (т.е. аллоантитела) к фактору VIII или фактору IX. Использование rFVIIa в качестве коагулянта в дальнейшем было использовано для лечения других связанных с кровоточивостью расстройств, например тромбастении Гланцманна, других состояний, связанных с обширным кровотечением, например, возникшим в результате травмы или хирургического вмешательства, включая, но не ограничиваясь пересадкой печени, операцией на простате и геморрагической травмой; rFVIIa в качестве коагулянта был использован для лечения коагулопатии новорожденных, тяжелых заболеваний печени; при трансплантации костного мозга, при тромбоцитопении и нарушениях функции тромбоцитов; при срочной отмене оральных антикоагулянтов; врожденном недостатке факторов V, VII, X и XI и болезни Виллебранда с ингибиторами фактора фон Виллебранда. Для достижения терапевтического эффекта требуется высокая доза rFVII. Дозы и режим дозирования для введения rFVII варьируют в зависимости от клинических показаний. Например, типичная доза rFVII для эпизодов кровотечения у больных гемофилией А или гемофилией В, имеющих аллоантитела, составляет 90 мкг/кг при внутривенной (ВВ) инъекции. Так как rFVII имеет период полураспада 2 ч, требуется повторное введение. Дополнительное введение может осуществляться через каждые 2 ч до остановки кровотечения. Диапазон доз может быть изменен в зависимости от тяжести состояния. Например, были эффективны дозы 35-120 мкг/кг. Кроме того, дозы и режим дозирования может меняться в зависимости от других признаков. Например, пациентам с гемофилией А или гемофилией В, перенесшим операцию, можно вводить начальную дозу 90 мкг/кг непосредственно перед операцией с повторными введениями каждые 2 ч во время и после операции. В зависимости от тяжести операции и эпизода кровотечения ВВ болюсная инфузия может продолжаться от 2 до 6 ч до достижения желаемого эффекта. У пациентов с врожденным недостатком FVII, как правило, rFVII вводят для предотвращения кровотечения при операции или других инвазивных процедурах в дозе 15-30 мкг/кг каждые 4-6 ч до остановки кровотечения.

Механизм инициирования гемостаза фактором rFVIIa объясняет потребность в высоких дозах. Пациенты с гемофилией обладают нормальной фазой начала коагуляции, где ТФ/FVIIa комплекс активирует FX в FXa и приводит к образованию тромбина на несущей ТФ клетке. Впоследствии, однако, процесс коагуляции нарушается, так как у больных гемофилией отсутствует фактор VIII (гемофилия А) или FIX (гемофилия В), и поэтому у пациентов не происходит образование FVIIIa/FIXa комплексов на поверхности активированных тромбоцитов, которые обычно служат для активации большого количества FX в FXa в фазах усиления и распространения, описанных выше. В связи с наличием ингибиторов, таких как TFPI и AT-III, фактор FXa, образованный на несущей ТФ клетке в результате расщепления ТФ/FVIIa комплексом, не способен легко диффундировать между поверхности клеток. В результате образования большого количества тромбина на поверхности активированных тромбоцитов не происходит, и сгусток не образуется.

Существует доказательство того, что кровоостанавливающее действие высоких доз rFVIIa может быть достигнуто за счет ТФ-зависимого и/или ТФ-независимого образования FXa фактором rFVIIa на активированных тромбоцитах (фиг. 3). ТФ-зависимое образование тромбина может быстро достичь максимальной скорости при насыщении молекул ТФ эндогенным FVIIa и rFVIIa. В некоторых случаях rFVIIa в высокой дозе может связывать активированные тромбоциты и превращать FX в FXa. Связанный с поверхностью FXa активирует FVa с образованием достаточного количества тромбина для гемостаза. Так как rFVII связывается с поверхностью тромбоцитов с низкой аффинностью, для образования тромбина может быть необходима высокая доза rFVII. Активация FXa на активированных тромбоцитах гарантирует, что rFVIIa-опосредованной гемостаз происходит в месте повреждения.

Способ снижения дозы rFVII может улучшить полезность и эффективность rFVII в качестве лекарственного средства. В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII. К ним относятся модифицированные FVII полипептиды, обладающие повышенной устойчивостью к AT-III и увеличенной каталитической активностью в присутствии и/или в отсутствие ТФ. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, также могут обладать повышенной устойчивостью к TFPI, повышенной устойчивостью к ингибиторному эффекту Zn^{2+} , улучшенными фармакокинетическими свойствами, такими как увеличенное время полураспада в сыворотке, увеличенным связыванием и/или аффинностью к активированным тромбоцитам, увеличенным связыванием и/или аффинностью к сывороточному альбумину и/или увеличенным связыванием и/или аффинностью к интегрину тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$. Указанные модифицированные полипептиды FVII могут проявлять увеличенную коагулянтную активность. Полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть использованы для лечения, инициируя гемостаз по ТФ-зависимому и/или ТФ-независимому механизму, что приводит к образованию FXa и образованию тромбина.

D. Модифицированные полипептиды FVII.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII. Полипептиды FVII проявляют изменения в одном или более видах активности или свойствах по сравнению с полипептидом FVII, который не был модифицирован или был модифицирован иначе. Активности или свойства, которые могут быть изменены в результате модификации, включают, но не ограничиваются, коагулянтной активностью; прокоагулянтной активностью; протеолитической или каталитической активностью, такой как активация фактора X (FX) или активация фактора IX (FIX); антигенностью (способностью связываться с анти-FVII антителом или конкурировать с полипептидом за связывание с анти-FVII антителом); способностью связывать тканевый фактор, фактор X или фактор IX; способностью связывать фосфолипиды; периодом полураспада; трехмерной структурой; pI и/или конформацией. Как правило, модифицированные полипептиды FVII проявляют прокоагулянтную активность. В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, которые обладают повышенной коагулянтной активностью при активации их зимогенной одноцепочечной формы. Такие модифицированные полипептиды FVII могут быть использованы для лечении нарушений свертываемости крови или состояний, таких как гемофилии или травмы, где полипептиды FVII могут содействовать свертыванию крови. Модифицированные полипептиды FVII включают полипептиды, которые обладают повышенной устойчивостью к ингибиторам, таким как антитромбин III (AT-III) и ингибитор пути тканевого фактора (TFPI), полипептиды, которые обладают повышенной устойчивостью к ингибиторному эффекту Zn^{2+}, полипептиды, которые обладают увеличенной каталитической активностью в присутствии и/или в отсутствие ТФ, полипептиды, которые обладают улучшенными фармакокинетическими свойствами, такими как увеличенный период полураспада, полипептиды, которые обладают увеличенным связыванием и/или аффинностью к поверхности тромбоцитов, полипептиды, которые обладают увеличенным связыванием и/или аффинностью к сывороточному альбумину, и полипептиды, которые обладают увеличенным связыванием и/или аффинностью к интегрину тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$. В частности, такие модифицированные полипептиды FVII могут быть использованы при заболеваниях или состояниях для обеспечения коагулянтной активности в обход потребности в FVIIIa и FIXa. В одном примере модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть использованы для лечения пациентов с гемофилией, имеющих антитела к FVIIIa и FIXa. Следовательно, модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, обладают преимуществами, включая уменьшение количества вводимого FVII, которое требуется для поддержания достаточной для гемостаза концентрации активного FVII в сыворотке крови. Это может привести, например, к более низким дозам и/или меньшей частоте введения, необходимым для достижения сопоставимого биологического эффекта, к повышению комфортности лечения и одобрения лечения субъектами и к ослаблению побочных эффектов. Модификации полипептида FVII могут быть введены в любую форму полипептида FVII, в том числе в аллельные и видовые варианты полипептида, варианты сплайсинга, в известные в уровне техники варианты или в гибридные или химерные молекулы FVII. Например, предусмотренные в настоящем документе модификации могут быть введены в полипептид-предшественник FVII, приведенный в SEQ ID NO: 1 или 2, в зрелый полипептид FVII, приведенный в SEQ ID NO: 3, или в любой видовой, аллельный или модифицированный вариант полипептида и в их активные фрагменты, которые имеют 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97,

98 или 99% идентичности последовательности с любым из полипептидов FVII, приведенных в SEQ ID NO: 1-3. Аллельные варианты FVII включают, но не ограничиваются, любыми полипептидами-предшественниками, обладающими последовательностью аминокислот, приведенной в любой из SEQ ID NO: 18-74. Примеры видовых вариантов, которые могут быть модифицированы по настоящему документу, включают, но не ограничиваются, человеческими и не человеческими полипептидами, включая полипептиды FVII коровы, мыши, карликового шимпанзе, шимпанзе, кролика, крысы, макаки резус, свиньи, собаки, рыбы-зебры, рыбы фугу, курицы, орангутанга и гориллы, последовательности которых приведены в SEQ ID NO: 4-17 соответственно. Модификации в полипептиде FVII могут быть введены в полипептид FVII, который также содержит другие модификации, как описано в уровне техники, включая модификации первичной последовательности и модификации не в первичной последовательности полипептида.

Модификации полипептидов FVII также включают модификации полипептидов, которые являются гибридами различных полипептидов FVII, а также синтетических полипептидов FVII, полученных рекомбинантно или синтезированных или построенных другими способами, известными в уровне техники, на основании последовательности известных полипептидов. Например, при выравнивании FVII с другими членами семейства факторов свертывания, такими как фактор IX (FIX) или фактор X (FX), среди членов семейства могут быть легко идентифицированы гомологичные домены. Могут быть сконструированы химерные варианты полипептидов FVII, в которых одна или более аминокислот или целые домены в аминокислотной последовательности FVII заменены с использованием аминокислотной последовательности соответствующего члена семейства. Кроме того, химерные полипептиды FVII включают полипептиды, в которых одна или более аминокислот или целые домены в аминокислотной последовательности человеческого FVII заменены с использованием аминокислотной последовательности различных видов (см., например, Williamson и др., (2005) J. Thromb. Haemost. 3: 1250-6). Такие химерные белки могут быть использованы в качестве начального, немодифицированного полипептида FVII в настоящем документе.

Предусмотренные в настоящем документе модификации начального, немодифицированного полипептида включают аминокислотные замены, вставки или удаления или любые их комбинации. Например, модифицированные полипептиды FVII включают полипептиды с 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50 или более модифицированными позициями. Также в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII с двумя или более модификациями по сравнению с начальным полипептидом FVII. Модифицированные полипептиды FVII относятся к полипептидам с 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50 или более модифицированными позициями. Любые модификации, предусмотренные в настоящем документе, могут быть объединены с любыми другими модификациями, известными специалисту в данной области техники, если полученный модифицированный полипептид FVII проявляет увеличенную коагулянтную активность, когда он находится в двухцепочечной форме. Как правило, модифицированные полипептиды FVII обладают повышенной коагулянтной активностью. Активности или свойства, которые могут быть изменены в результате модификации, включают, но не ограничиваются, коагулянтной активностью; прокоагулянтной активностью; протеолитической или каталитической активностью, включая активацию фактора X (FX) или активацию фактора IX (FIX); антигенностью (способностью связывать анти-FVII антитела или конкурировать с полипептидом за связывание с анти-FVII антителами); способностью связывать тканевый фактор, ингибитор пути тканевого фактора (TFPI), антитромбин III, фактор X или фактор IX; способностью связывать фосфолипиды, сывороточный альбумин или интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$; периодом полураспада в сыворотке; трехмерной структурой; pI и/или конформацией. Модифицированные полипептиды FVII по настоящему документу включают полипептиды, которые имеют повышенную устойчивость к антитромбину III (AT-III), увеличенную каталитическую активность в присутствии и/или в отсутствие ТФ, повышенную устойчивость к ингибитору пути тканевого фактора (TFPI), повышенную устойчивость к ингибиторному эффекту Zn^{2+}, улучшенные фармакокинетические свойства, такие как увеличенное время полураспада в сыворотке, увеличенную собственную активность, измененное гликозилирование, повышенную аффинность и/или связывание с сывороточным альбумином, повышенную аффинность и/или связывание с интегрином тромбоцитов и/или повышенную аффинность и/или связывание с активированными тромбоцитами.

В некоторых примерах модификация может повлиять на два или более свойств или активностей полипептида FVII. Например, модификация может привести к увеличению устойчивости к AT-III и увеличенной каталитической активности модифицированного полипептида FVII по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Для определения спектра эффектов модификации могут быть определены свойства и активности модифицированных полипептидов FVII, предусмотренных в настоящем документе. Такие анализы известны и описаны ниже. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, также включают полипептиды FVII, которые дополнительно модифицированы клеточными механизмами, и включают, например, гликозилированные, γ-карбоксилированные и β-гидроксилированные полипептиды.

Модификации полипептида FVII, предусмотренные в настоящем документе, предназначены для увеличения устойчивости к AT-III, увеличения устойчивости к TFPI, увеличения устойчивости к ингиби-

торному действию Zn^{2+}, предназначены для улучшения фармакокинетических свойств, таких как увеличение времени полураспада в сыворотке, увеличения каталитической активности в присутствии и/или в отсутствие ТФ, повышения связывания активированных тромбоцитов, изменения гликозилирования, увеличения аффинности и/или связывания с интегрином тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$, увеличения аффинности и/или связывания с сывороточным альбумином и/или увеличения аффинности и/или связывания с активированными тромбоцитами. Например, полипептид FVII может включать модификацию (модификации), которая увеличивает каталитическую активность или связывание с тромбоцитами или оба указанных свойства. В других примерах любые модификации, предусмотренные в настоящем документе, могут быть комбинированы с любой другой модификацией, известной специалисту в данной области, если полученный модифицированный полипептид FVII проявляет увеличенную коагулянтную активность, когда присутствует в двухцепочечной форме. Как правило, такая повышенная коагулянтная активность связана с повышенной устойчивостью к AT-III, увеличенной каталитической активностью, повышенной устойчивостью к ингибиторному эффекту Zn^{2+}, улучшенными фармакокинетическими свойствами, такими как увеличенное время полураспада в сыворотке, повышенной устойчивостью к TFPI, измененным гликозилированием, увеличенным связыванием и/или аффинностью к фосфолипидам, увеличенным связыванием и/или аффинностью к сывороточному альбумину и/или увеличенным связыванием и/или аффинностью к интегрину тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$.

В некоторых примерах модификации, которые были введены в полипептид FVII для изменения конкретной активности или свойства также могут влиять на другую активность или свойство или вместо конкретной активности или свойства влиять только на другую активность или свойство. Таким образом, предусмотренные в настоящем документе модификации могут влиять на свойства или активности, на которые модификации были направлены, и на одно или более других свойств или активностей. Например, модификации, введенные в полипептид FVII для увеличения каталитической активности, также могут увеличить устойчивость к AT-III. В некоторых примерах одна модификация, такая как замена одной аминокислоты, изменяет 2, 3, 4 или более свойств или активностей полипептида FVII. Для определения спектра эффектов модификации может быть проанализировано каждое свойство и активность модифицированного полипептида FVII, предусмотренного в настоящем документе. Такие анализы известны и описаны ниже. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, также включают полипептиды FVII, которые дополнительно модифицированы клеточными механизмами, и включают, например, гликозилированные, γ-карбоксилированные и β-гидроксилированные полипептиды.

Предусмотренные в настоящем документе модификации могут быть введены с использованием стандартных методов рекомбинантной ДНК, хорошо известных специалистам в данной области. Может быть использован любой известный в уровне техники способ мутирования одной или нескольких аминокислот в целевом белке. Способы включают стандартный сайт-направленный мутагенез (с использованием, например, набора, такого как набор QuikChange от Stratagene) кодирующей молекулы нуклеиновой кислоты или метод твердофазного синтеза полипептидов. Кроме того, модифицированные химерные белки, предусмотренные в настоящем документе (т.е. белки с заменой домена Gla), могут быть получены обычными методами рекомбинантной ДНК. Например, химерные полипептиды могут быть получены с помощью ферментов рестрикции и методик клонирования для рутинного субклонирования желаемых компонентов химерного полипептида.

Другие модификации, которые представляют собой модификации первичной последовательности полипептида или не представляют собой модификации первичной последовательности, также могут быть введены в модифицированный полипептид FVII или его конъюгат, включая, но не ограничиваясь, добавлением углеводного фрагмента, добавлением фрагмента полиэтиленгликоля (ПЭГ), добавлением домена Fc и т.д. Например, такие дополнительные модификации могут быть введены для повышения стабильности или времени полураспада белка.

Полученные модифицированные полипептиды FVII включают полипептиды, которые являются одноцепочечными зимогенами, или полипептиды, которые являются двухцепочечными зимогеноподобными полипептидами. Например, любые модифицированные полипептиды, предусмотренные в настоящем документе, которые представляют собой одноцепочечные полипептиды, могут быть автоактивированы или активированы другими факторами свертывания крови с образованием модифицированных FVII в двухцепочечной форме (т.е. FVIIa). Модифицированные полипептиды FVII, как правило, проявляют активность в двухцепочечной форме.

Предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII могут проявлять повышенную устойчивость к антитромбину III (AT-III), увеличенную каталитическую активность в присутствии и/или в отсутствие ТФ, повышенную устойчивость к ингибиторному эффекту Zn^{2+}, повышенную устойчивость к ингибитору пути тканевого фактора (TFPI), улучшенные фармакокинетические свойства, такие как увеличенное время полураспада в сыворотке, могут обладать измененным гликозилированием, проявлять повышенную аффинность и/или связывание с фосфолипидами, повышенную аффинность и/или связывание с сывороточным альбумином, повышенную аффинность и/или связывание с интегрином тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$. Как правило, предусмотренные здесь модифицированные полипептиды

FVII проявляют такие свойства и/или активности при сохранении других видов активности или свойств FVII, включая, но не ограничиваясь, связывание ТФ и/или связывание и активацию FX. Следовательно, модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, сохраняют способность связывать ТФ и/или связывать и активировать FX по сравнению с начальным полипептидом FVII или полипептидом FVII дикого типа. Как правило, такая активность остается в значительной степени неизменной (измененной менее чем на 1, 5 или 10%) по сравнению с исходным белком или белком дикого типа. В других примерах активность модифицированного полипептида FVII увеличивается или уменьшается по сравнению с полипептидом FVII дикого типа или исходным полипептидом FVII. Активность может быть оценена in vitro или in vivo и может быть сравнена с активностью немодифицированного полипептида FVII, такого как, например, зрелый нативный полипептид FVII дикого типа (SEQ ID NO: 3), предшественник полипептида FVII дикого типа (SEQ ID NO: 1 или 2) или любой другой полипептид FVII, известный специалисту в данной области, который использовался в качестве исходного полипептида.

Следовательно, в силу предусмотренных в настоящем документе модификаций, модифицированные полипептиды FVII могут обладать повышенной коагулянтной активностью, увеличенной продолжительностью коагулянтной активности и/или повышенным терапевтическим индексом. Указанные изменения можно наблюдать ТФ-зависимо и/или ТФ-независимо. Как правило, повышенную коагулянтную активность, увеличенную продолжительность коагулянтной активности и/или повышенный терапевтический индекс модифицированных полипептидов FVII, предусмотренных в настоящем документе, можно наблюдать in vitro или ex vivo с помощью соответствующих анализов или можно наблюдать in vivo, например, при введении субъекту, например человеку или не человеку. Активность модифицированных полипептидов FVII может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с активностью исходного или немодифицированного полипептида FVIIa.

1. Увеличение каталитической активности.

FVII содержит остаток серина (положение 195 по стандартной нумерации химотрипсина (химотрипсиногена)) в активном центре, который действует как нуклеофил в реакции расщепления. Каталитическая триада сериновых протеаз также включает в себя два дополнительных остатка: H57 и D102 (по нумерации химотрипсина). Каталитическая триада человеческого FVIIa соответствует положениям H193, D242 и S344 последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3. Каждая из трех указанных ключевых аминокислот играет существенную роль в каталитической активности протеазы. Сериновые протеазы гидролизуют пептидные связи через образование тетраэдрического переходного состояния и ацил-ферментного интермедиата. Реакция начинается с нековалентного связывания субстрата в углублении на поверхности протеазы (т.е. в активном центре), которое содержит H57 и S195, с образованием "комплекса Михаэлиса-Ментен". Прохождение реакции требует последующей нуклеофильной атаки P1 карбонильного остатка субстрата O-гамма атомом серина активного центра (т.е. серином 195) фермента с образованием тетраэдрического переходного состояния, которое быстро превращается в ацил-ферментный интермедиат. Структура в активном центре, которая включает остатки глицина 193 и серина 195 (соответствующие G342 и S344 последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3), известная как оксианионная впадина, способствует эффективному катализу за счет стабилизации переходного состояния. В частности, амидные атомы водорода основной цепи этих двух остатков формируют стабилизирующие водородные связи с оксианионом (т.е. карбонильным кислородом остатка P1), который образуется в тетраэдрическом переходном состоянии. В дополнение к стабилизации связывание субстрата в оксианионной впадине располагает расщепляющуюся связь должным образом для продуктивного ацилирования и деацилирования, которые приводят к разрыву связи. Важность оксианионной впадины в активности FVII подтверждается тем наблюдением, что мутации в аминокислотной позиции 342 (соответствующей позиции 193 по нумерации химотрипсина) могут привести к дефектному FVII (см., например, Bernardi и др., (1994) Br. J. Haematol . 86:610-618 и Bernardi и др., (1996) Human Mut. 8:108-115).

a. Примеры модификаций, увеличивающих каталитическую активность.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, которые обладают повышенной коагулянтной активностью. Такие полипептиды FVII могут быть получены за счет аминокислотной замены одного или нескольких остатков, где замена может повлиять на конформацию оксианионной впадины. Внедрение различных аминокислотных остатков в конкретные положения (например, в положение 143 по нумерации химотрипсина или 286 по нумерации зрелого FVII) может изменить конформацию модифицированного полипептида FVII, что приведет к увеличению эффективности катализа оксианионной впадиной. Это может привести к модифицированным полипептидам FVII с повышенной каталитической активностью по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Изменения в каталитической активности из-за мутации, влияющей на оксианионную впадину, могут проявляться как увеличение коагулянтной активности. Увеличение каталитической и коагулянтной активности модифицированных полипептидов FVII, предусмотренных в настоящем документе, можно наблюдать в присутствии и/или в отсутствие тканевого фактора (т.е. увеличение активности может быть ТФ-зависимым

и/или ТФ-независимым). Таким образом, при оценке в соответствующем in vitro, in vivo, или ex vivo анализе, таком как введение полипептида субъекту в качестве прокоагулянтной терапии, модифицированные полипептиды FVII могут проявлять увеличенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII.

Конформация оксианионной впадины может быть изменена для образования более эффективной конформации путем модификации одного или более аминокислотных остатков, которые участвуют в образовании оксианионной впадины или находятся в непосредственной близости от оксианионной впадины. Как предусмотрено в настоящем документе, примером такого аминокислотного остатка является остаток Q286 (нумерация соответствует последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3), который соответствует остатку Q143 по нумерации химотрипсина. Q286 может быть изменен, например, путем аминокислотной замены, удаления или вставки. Если модификация представляет собой аминокислотную замену, остаток глутамина в положении 286 может быть заменен на остаток любой другой аминокислоты.

Q286 находится рядом и контактирует с остатками, которые формируют районы активного центра и расщелины активного центра полипептида FVII. Таким образом, было предположено, что модификации в этом положении должны привести к снижению каталитической активности (см., например, патент США № 6806063). Это было продемонстрировано в предыдущих исследованиях (см., например, WO 2007031559), где глутаминовый остаток заменен на остаток аланина (Q286A). Полученный модифицированный полипептид FVIIa проявлял сниженную способностью к активации фактора X по сравнению с полипептидом дикого типа. В других исследованиях та же мутация практически не влияла на каталитическую активность мутанта FVIIa по отношению к фактору X (Dickinson и др., (1996) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 93:14379-14384) или по отношению к синтетическому субстрату (WO 2007031559).

Однако как показано здесь (см. пример 4 ниже), модификация полипептида FVII в положении 286 (нумерация соответствует последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3; соответствует положению 143 по нумерации химотрипсина), в частности замена на основный остаток, такой как аргинин (Arg, R), приводит к модифицированному полипептиду FVII с повышенной каталитической и коагулянтной активностью.

Таким образом, в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие модификации, такие как замена аминокислоты основной аминокислотой в положении, соответствующем положению 286 последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3 (положение 143 по нумерации химотрипсина). Предусмотренные в настоящем документе модификации в положении 286 могут быть введены в любой полипептид FVII, в том числе полипептид-предшественник FVII, приведенный в SEQ ID NO: 1 или 2, в зрелый полипептид FVII, приведенный в SEQ ID NO: 3, или могут быть введены в любой видовой, аллельный или модифицированный вариант и их активный фрагмент, который обладает 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентичностью последовательности с любым из полипептидов FVII, приведенных в SEQ ID NO: 1-3.

Модификация полипептида FVII в положении 286 по нумерации зрелого FVII (соответствует положению 143 по нумерации химотрипсина) может изменить конформацию оксианионной впадины таким образом, что измененная конформация способствует более эффективному катализу превращения субстрата. Увеличение каталитической активности таких модифицированных полипептидов FVII может проявляться в присутствии и/или в отсутствие тканевого фактора и может быть оценено с использованием in vitro тестов, как описано в примерах 4 и 7 ниже. В дополнение к проявлению увеличенной каталитической активности полипептиды FVII, которые были модифицированы в положении 286 по нумерации зрелого FVII, также могут обладать повышенной устойчивостью к AT-III. Это может быть связано, например, с уменьшением связывания модифицированного полипептида FVII с AT-III при определенных условиях (например, после инъекции пациенту) или с пониженной скоростью инактивации AT-III (т.е. уменьшенной константой скорости второго порядка для ингибирования), что может проявляться как увеличение коагулянтной активности в присутствии AT-III по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Повышенная устойчивость к AT-III может быть оценена с использованием in vitro тестов, как описано в примере 5.

Аминокислотный остаток Q286 по нумерации зрелого FVII (соответствующий остатку Q143 по нумерации химотрипсина) может быть модифицирован удалением, заменой или замещением аминокислоты любой другой аминокислотой. Альтернативно, аминокислота может быть вставлена непосредственно перед аминокислотным остатком Q286 или после остатка, изменяя конформацию в непосредственной близости от аминокислотного остатка Q286. Кроме того, полипептид FVII с модификацией Q286 также может содержать одну или несколько других модификаций, в том числе вставки, удаления, замены или замещения аминокислот, полипептид также может содержать модификации, не затрагивающие первичную последовательность полипептида, такие как добавление углеводного фрагмента, добавление фрагмента полиэтиленгликоля (ПЭГ), добавление домена Fc и т.д. или любую их комбинацию. Таким образом, полипептид FVII, содержащий модификацию в положении 286 по нумерации зрелого FVII, может содержать 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50 или более модифицированных положений. Такие полипептиды сохраняют по меньшей мере один вид активности немодифициро-

ванного полипептида FVII. Как правило, модифицированный полипептид FVII проявляет увеличенную коагулянтную активность.

Указанные изменения в активности могут проявляться как увеличение коагулянтной активности, увеличение продолжительности коагулянтной активности, ускорение наступления терапевтического эффекта, ускорение наступления коагулянтной активности и/или повышение терапевтического индекса. Таким образом, в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, включающие модификацию в положении 286 по нумерации зрелого FVII, которые обладают повышенной коагулянтной активностью по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Такие модифицированные полипептиды FVII могут быть использованы для лечения нарушений свертываемости крови, таких как гемофилии, или при операциях, травмах, повреждениях, где полипептиды FVII помогут содействию свертыванию крови. Из-за повышенной коагулянтной активности модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, содержащие модификацию в положении 286 по нумерации зрелого FVII, обладают преимуществами при лечении перед полипептидом FVII дикого типа, таким как фактор VII Novoseven®, включая уменьшение количества вводимого FVII, которое требуется для поддержания достаточной для гемостаза концентрации активного FVII в сыворотке крови. Это может привести, например, к более низким дозам и/или частоте введения, необходимым для достижения сопоставимого биологического эффекта, может привести к быстрому наступлению терапевтического эффекта, более длительному действию, повышенной комфортности лечения и одобрению лечения субъектами и/или к ослаблению нежелательных побочных эффектов.

I. Основные аминокислотные замены в положении 286.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, в которых глутамин в положении 286 (нумерация соответствует последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3; соответствует положению 143 по нумерации химотрипсина) заменен остатком основной аминокислоты, такой как любая аминокислота, выбранная из аргинина (Arg, R), гистидина (His, H) или лизина (Lys, K). В частности, в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, в которых глутамин в положении 286 заменен на аргинин (т.е. произошла замена Q286R, соответствующая замене Q143R по нумерации химотрипсина). Моделирование показывает, что замена глутамина на аргинин приводит к потере двух ключевых взаимодействий, которые стабилизируют неактивную конформацию оксианионной впадины в FVIIa дикого типа или в немодифицированном FVII. Дестабилизирующие взаимодействия в FVII дикого типа или немодифицированном FVII включают взаимодействие между боковой цепью остатка Q286 (соответствующего Q143 по нумерации химотрипсина) и амидной группой G342 основной цепи (соответствующего G193 по нумерации химотрипсина), и взаимодействие между карбонильной группой главной цепи K341 (соответствующего K1 по нумерации химотрипсина) и амидной группой главной цепи S195 (соответствующего S344 по нумерации химотрипсина). Замена глутамина в белке дикого типа на аргинин в положении 286, однако, не только нарушает указанные взаимодействия, но и создает два новых важных взаимодействия. Они включают создание солевого моста между основной боковой цепью модифицированной аминокислоты R286 (R143 по нумерации химотрипсина) и кислой боковой цепью нативного остатка D289 (D146 по нумерации химотрипсина), и взаимодействие амидной группы основной цепи модифицированной аминокислоты R286 и карбонильной группы основной цепи K341, которые стабилизируют активную конформацию модифицированного полипептида FVIIa. Кроме того, новый солевой мост между модифицированной аминокислотой R286 и D289, как ожидается, изменяет конформацию и/или гибкость "петли автолиза", которая является частью расщелины активного центра. Петля автолиза вовлечена в распознавание высокомолекулярного субстрата и ингибиторную специфичность протеаз свертывания. Таким образом, изменение конформации и/или гибкости этой петли может привести, например, к увеличению каталитической активности по отношению к субстрату (например, фактору X и/или фактору IX) и повышению устойчивости к ингибиторам (например TFPI и/или AT-III). Таким образом, замена глутамина в положении 286 на основную аминокислоту, такую как аргинин (Arg, R), гистидин (His, H) или лизин (Lys, K), может привести к увеличению каталитической и коагулянтной активности по сравнению с полипептидом FVII дикого типа. Таким образом, предусмотренные здесь полипептиды FVII содержат мутации Q286R, Q286K или Q286H по нумерации зрелого FVII (соответствующие мутациям Q143R, Q143K или Q143H, соответственно, по нумерации химотрипсина). Примеры таких полипептидов представляют собой полипептиды с последовательностями аминокислот, приведенными в SEQ ID NO: 118, 119 и 129 соответственно.

Аминокислотная замена глутамина (Gin, Q) на основный аминокислотный остаток, в частности аргинин (Arg, R), в положении 286 последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, может быть введена в любой полипептид FVII, в том числе полипептид-предшественник FVII с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 1 или 2, введена в зрелый полипептид FVII, приведенный в SEQ ID NO: 3, или в любой видовой, аллельный и модифицированный вариант, такой как описано в уровне техники, и в их активные фрагменты, которые обладают 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% идентичностью последовательности с любым из полипептидов FVII, приведенных в SEQ ID NO: 1-3. Например, мутация Q286R может быть введена в любой модифицированный полипептид FVII, описанный в уровне техники, включая любые полипептиды, описанные в настоящем докумен-

те. Такие модифицированные полипептиды FVII включают, но не ограничиваются, модифицированные полипептиды FVII, содержащие мутацию (мутации) M298Q (SEQ ID NO: 158), см., например, Persson и др., (2001) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98:13583-13588), E296V/M298Q (SEQ ID NO: 343), V158E (SEQ ID NO: 344), E296R/M298K (SEQ ID NO: 345), K337A (SEQ ID NO: 346), V158D/E296V/M298Q (SEQ ID NO: 98; NN1 731; см., например, Persson и др., (2007) Art. Thromb. Vase. Biol. 27 (3): 683-689), V158D/E296V/M298Q/K337A (SEQ ID NO: 347, см., например, Lisman и др., (2003) J. Thromb. Haem. 1: 2175-2178), V253N (SEQ ID NO: 348, см., например, US 7427592), T106N (SEQ ID NO: 349; см., например, US 7427592), T106N/V253N (SEQ ID NO: 350; см., например, US 7427592), K143N/N145T (SEQ ID NO: 351; US 7442524), R315N/V317T (SEQ ID NO: 352; US 7442524) или K143N/N145T/R315N/V317T (SEQ ID NO: 353; US 7442524).

Мутация Q286R также может быть введена в химерные полипептиды FVII, или гибридные полипептиды FVII, или в полипептиды FVII, которые были модифицированы иным образом, например путем гликопегилирования (см., например, WO 2007022512; Ghosh и др., (2007), текст презентации на Am. Society. Hematol. Meeting 10 декабря 2007 г.). В одном примере аминокислотная замена глутамина на аргинин в положении, соответствующем положению 286 последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, приводит к полипептиду FVII с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 118.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие аминокислотную замену Q286R по нумерации зрелого FVII (соответствующую Q143R по нумерации химотрипсина), где модифицированные полипептиды FVII обладают повышенной коагулянтной активностью. Такие модифицированные полипептиды FVII могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50 или более модифицированных положений, в которых одно из модифицированных положений представляет собой положение 286. Таким образом, в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие две или более модификаций, при этом одна модификация представляет собой аминокислотную замену Q286R (по нумерации зрелого FVII) и модифицированный полипептид FVII проявляет увеличенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Мутацию Q286R можно комбинировать с любыми другими мутациями, описанными в настоящем документе или известными в уровне техники. Как правило, полученный модифицированный полипептид проявляет увеличенную коагулянтную активность. Специалист в уровне техники может определить коагулянтную активность полипептида FVII, содержащего модификацию Q286R, с использованием in vitro и in vivo анализов, известных в уровне техники и описанных здесь. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, включают полипептиды, которые содержат мутацию Q286R, а также одну или несколько мутаций, которые, например, повышают устойчивость к антитромбину-III, повышают способность активировать FX, повышают способность активировать FIX, увеличивают связывание и/или аффинность к фосфолипидам, увеличивают аффинность к тканевому фактору, увеличивают собственную активность, увеличивают ТФ-зависимую активность, изменяют конформацию полипептида для изменения зимогенности, увеличивают каталитическую или коагулянтную активность, например, сдвигая равновесие между высокоактивной и менее активной конформацией FVIIa в пользу высокоактивной конформации, повышают устойчивость к протеазам, уменьшают гликозилирование, увеличивают гликозилирование, уменьшают иммуногенность, повышают стабильность и/или содействуют химическому связыванию групп.

Увеличенная коагулянтная активность модифицированных полипептидов FVII, содержащих аминокислотную замену Q286R, может быть результатом увеличенной каталитической активности. Увеличенную каталитическую активность можно наблюдать в присутствии и/или в отсутствие тканевого фактора (ТФ). Таким образом, увеличенная каталитическая активность может быть ТФ-зависимой и/или ТФ-независимой. Каталитическая активность модифицированного полипептида FVII, содержащего мутацию Q286R, может быть оценена с использованием in vitro тестов, таких как тесты, описанные в примерах 4 и 7. С помощью таких анализов можно определить каталитическую активность модифицированных полипептидов FVII по отношению к субстрату, такому как фактор X, в присутствии или в отсутствие тканевого фактора. Модифицированные полипептиды FVII, содержащие мутацию Q286R, могут обладать каталитической активностью, повышенной приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более в присутствии и/или в отсутствие тканевого фактора по сравнению с каталитической активностью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro. Например, как показано в примере 4, полипептид FVIIa с мутацией Q286R (Q143R по нумерации химотрипсина) в качестве единственной модификации может обладать каталитической активностью по отношению к FX в присутствии или в отсутствие ТФ, которая приблизительно в два-четыре раза больше, чем каталитическая активность FVII дикого типа. В других примерах полипептид FVIIa с мутациями Q286R и M298Q может обладать каталитической активностью по отношению к FX в присутствии ТФ, которая приблизительно в три-четыре раза больше, чем каталитическая активность FVII дикого типа, и может обладать каталитической активностью по отношению к FX в отсутствие ТФ, которая приблизительно в семь-двадцать шесть раз больше, чем каталитическая активность FVII дикого типа.

Неограничивающие примеры модифицированных полипептидов FVII, содержащих две или более модификации, где одна модификация представляет собой замещение аминокислоты Q286R (по нумерации зрелого FVII), а модифицированный полипептид FVII проявляет увеличенную каталитическую активность по отношению к FX в присутствии и/или в отсутствие тканевого фактора по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII, приведены в табл. 5 и в примере 4 ниже.

В настоящем документе приведен идентификатор последовательностей (SEQ ID NO), в рамках которого приведены примеры аминокислотных последовательностей модифицированных полипептидов FVII. Как описано более подробно в разделе D.6 ниже, модификация "замена Gla из FIX" включает удаление эндогенного домена Gla белка FVII, т.е. удаление аминокислотных остатков с A1 по Y44 (остатки соответствуют последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3), и вставку 45 аминокислотных остатков, которые соответствуют аминокислотным остаткам с Y1 до Y45 домена Gla белка FIX, приведенным в SEQ ID NO: 83. В некоторых примерах гетерологичный домен Gla FIX в модифицированных "заменой Gla из FIX" полипептидах FVII содержит одну или несколько аминокислотных замен в положениях, соответствующих M9, E40, K43 и/или Q44 в последовательности домена Gla белка FIX, приведенной в SEQ ID NO: 83. Такие замены обозначаются фигурными скобками (например, {замена Gla из FIX/Q44S}). В случаях, когда модифицированные аминокислотные позиции не имеют соответствующего номера по химотрипсину (т.е. если позиция не относится к аминокислотным позициям с 153 до 406 последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, и не указана в табл. 1 выше), позиция обозначается в скобках с использованием нумерации зрелого FVII. Например, T158N не имеет соответствующего номера по химотрипсину и приводится в виде T[158]N, когда речь идет о нумерации химотрипсина.

Таблица 5

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
Замена Gla из FIX/Q286R	Замена Gla из FIX/Q143R	131
Q286R/H257A	H117A/Q143R	132
S222A/Q286R	S82A/Q143R	133
Q286R/S222A/H257A	S82A/H117A/Q143R	134
Замена Gla из FIX /S222A/Q286R	S82A/Замена Gla из FIX/Q143R	135
Замена Gla из FIX/H257A/Q286R	H117A/Замена Gla из FIX/Q143R	136
Замена Gla из FIX /S222A/H257A/Q286R	Q143R/S82A/H117A/Замена Gla из FIX	137
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	138
Q286R/M298Q/K341Q	Q143R/M156Q/K192Q	139
Q286R/M298Q/K199E	Q143R/M156Q/K60cE	140
S222A/H257A/Q286R/M298Q	S82A/H117A/Q143R/M156Q	150
A175S/Q286R/Q366V	A39S/Q143R/Q217V	144
S222A/Q286R/Q366V	S82A/Q143R/Q217V	145
H257S/Q286R	H117S/Q143R	146
H257S/Q286R/Q366V	H117S/Q143R/Q217V	147
S222A/H257A/Q286R/Q366V	S82A/H117A/Q143R/Q217V	148
Q286R/H373A	Q143R/H224A	149
Q286R/K341D	Q143R/K192D	151
Q286R/Q366D	Q143R/Q217D	152
Q286R/Q366N	Q143R/Q217N	153
Q286R/M298Q/Q366N	Q143R/M156Q/Q217N	155
Q286R/H373F	Q143R/H224F	156
Q286R/M298Q/H373F	Q143R/M156Q/H224F	157
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	138
T128N/P129A/Q286R	T[128]N/P[129]A/Q143R	279
Замена Gla из FIX/T128N/P129A/ S222A/Q286R	Замена Gla из FIX/ T[128]N/P[129]A/ S82A/Q143R	285
Замена Gla из FIX/ S52A/S60A/S222A/Q286R	Замена Gla из FIX/ S[52]A/S[60]A/S82A/Q143R	292
Замена Gla из FIX/ Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/ Q143R/M156Q	141
T128N/P129A/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/Q143R/ M156Q	280
Замена Gla из FIX/T128N/P129A/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/T[128]N/P[129]A/Q143R/ M156Q	286
{Замена Gla из FIX/E40L}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/E[40]L}/ Q143R/M156Q	274
{Замена Gla из FIX/K43I}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/K[43]I}/ Q143R/M156Q	275
{Замена Gla из FIX/Q44S}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/Q[44]S}/ Q143R/M156Q	276

{Замена Gla из FIX/M19K}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/M[19]K}/ Q143R/M156Q	277
S52A/S60A/Q286R/M298Q	S[52]A/S[60]A/Q143R/M156Q	293
T128N/P129A/S222A/H257A/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/S82A/H117A/Q143R /M156Q	287
S52A/S60A/S222A/H257A/Q286R/ M298Q	S[52]A/S[60]A/S82A/H117A/Q143R /M156Q	298
T128N/P129A/ Q286R/H373F	T[128]N/P[129]A/Q143R/H224F	281
S52A/S60A/ Q286R/H373F	S[52]A/S[60]A/Q143R/H224F	296
T128N/P129A/Q286R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/ H224F	288
S52A/S60A/Q286R/M298Q/H373F	S[52]A/S[60]A/Q143R/M156Q/H224F	297
V21D/Q143R/E154V/M156Q	V21D/Q143R/E154V/M156Q	282
Замена Gla из FIX /S222A/T239V/Q286R	Замена Gla из FIX /S82A/T99V/ Q143R	301
T239V/Q286R/M298Q	T99V/Q143R/M156Q	302
Замена Gla из FIX/ T239V/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/ T99V/Q143R/ M156Q	304
S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q	S82A/T99V/H117A/Q143R/M156Q	303
T239V/Q286R/H373F	T99V/Q143R/H224F	305
T239V/Q286R/M298Q/H373F	T99V/Q143R/M156Q/H224F	306
T239I/Q286R	T99I/Q143R	308
GlaSwapFIX/S222A/T239I/Q286R	Замена Gla из FIX /S82A/T99I/Q143R	310
T239I/Q286R/M298Q	T99I/Q143R/M156Q	311
Замена Gla из FIX /T239I/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX /T99I/Q143R/ M156Q	313
S222A/T239I/H257A/Q286R/M298Q	S82A/T99I/H117A/Q143R/M156Q	312
T239I/Q286R/H373F	T99I/Q143R/H224F	314
T239V/Q286R	T99V/Q143R	299
T239I/Q286R/M298Q/ H373F	T99I/Q143RM156Q/H224F	315
H257S/Q286R/M298Q	H117S/Q143R/M156Q	322
Замена Gla из FIX /Q286R/S222A/H257S	Замена Gla из FIX /Q143R/S82A/ H117S	321
S222A/H257S/Q286R/ M298Q	S82A/H117S/Q143R/M156Q	324
H257S/Q286R/M298Q/ H373F	H117S/Q143R/M156Q/H224F	325
S222A/Q286R/M298Q/ H373F	S82A/Q143R/M156Q/H224F	326
Замена Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q/ H373F	Замена Gla из FIX S82A/Q143R/M156Q/H224F	318
S222A/Q286R/M298Q	S82A/Q143R/M156Q	328
Замена Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX S82A/Q143R/M156Q	317
Замена Gla из FIX/ S222A/Q286R/H373F	Замена Gla из FIX/ S82A/Q143R/H224F	316
H257A/Q286R/M298Q	H117A/Q143R/M156Q	321
T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R/M15 6Q	337
A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R/M15 6Q	338
T128N/P129A/A175S/S222A/H257A/ Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/A39S/S82A/H117 A/Q143R/M156Q	339
A122N/G124S/A175S/S222A/H257A/Q28 6R/ M298Q	A[122]N/G[124]S/A39S/S82A/H117 A/Q143R/M156Q	340
T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q/H37 3F	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R/M15 6Q/H224F	341
A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q/H37 3F	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R/Ml 56Q/H224F	342
V158D/Q286R/E296V/M298Q/H373F	V21D/Q143R/E154V/M156Q/H224F	320
{Замена Gla из FIX /K43I}/T128N/P129A/Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX /K[43]I}/ T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q	355
T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/ Q217N	356
{Замена Gla из FIX /K43I}/Q286R/M298Q/Q366N	{Замена Gla из FIX /K[43]I}/Q143R/M156QQ217N	357
{Замена Gla из FIX /K43I}/ T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N	{Замена Gla из FIX /K[43]I}/ T[128]N/P[129]A/Q143R/M156QQ2 17N	358
VI58D/Q286R/E296V/M298Q	V21D/Q143R/E154V/M156Q	360
T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N/H3 73F	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/Q 217N/H224F	364
T239V/Q286R/M298Q/Q366N	T99V/Q143R/M156Q/Q217N	365
T239I/Q286R/M298Q/Q366N	T99I/Q143R/M156Q/Q217N	366

T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/T99V/Q143R/M156Q	367
T128N/P129A/S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/S82A/T99V/H117A/Q143R/M156Q	368
T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/T99V/Q143R/M156Q/H224F	369
T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/T99I/Q143R/M156Q	370
T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/T99I/Q143R/M156Q/H224F	371

Полипептид FVII, содержащий мутацию Q286R по нумерации зрелого FVII, также может обладать повышенной устойчивостью к AT-III. Повышенная устойчивость к AT-III может быть результатом уменьшенной скорости ингибирования AT-III или уменьшенным связыванием с AT-III при определенных условиях, например после инъекции животному или пациенту. Устойчивость к AT-III может быть продемонстрирована путем измерения константы скорости ингибирования второго порядка полипептида FVIIa дикого типа и варианта полипептида FVIIa. Другие in vitro методы, такие как анализы с помощью BIAcore®, также могут быть использованы. Модифицированные полипептиды FVII могут обладать повышенной устойчивостью к ингибиторному действию AT-III по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII, устойчивость может быть оценена in vitro с помощью таких анализов, как описано в примере 5.

Модифицированные полипептиды FVII, содержащие мутацию Q286R, могут обладать устойчивостью к AT-III, повышенной приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с устойчивостью к AT-III немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro. Например, как показано в примере 5 ниже, полипептид FVIIa, содержащий мутацию Q286R (Q143R по нумерации химотрипсина), может обладать каталитической активностью по отношению к FX в присутствии AT-III и в отсутствие ТФ, которая повышена в два-четыре и более раз по сравнению с каталитической активности FVII дикого типа. Таким образом, модифицированный Q286R полипептид FVII может проявлять устойчивость к AT-III, повышенную приблизительно на 200-400% по сравнению с устойчивостью немодифицированного полипептида FVII.

Увеличенная каталитическая активность и повышенная устойчивость к AT-III могут проявляться как увеличенная коагулянтная активности в присутствии и/или в отсутствие ТФ. Такая активность может быть оценена in vitro, ex vivo или in vivo, например, при введении человеку или животному. Коагулянтная активность модифицированного полипептида FVII, содержащего мутацию Q286R, может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с коагулянтной активностью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro. Например, в примере 6.B.2 показано, что полипептид FVIIa с мутацией Q286R (Q143R по нумерации химотрипсина) проявляет большую (примерно в 2 раза) коагулянтную активность в модели кровотечения на мыши, чем коагулянтная активность полипептида FVII дикого типа (например, FVII Novoseven®). Полипептид FVIIa, содержащий мутации Q286R и M298Q (Q143R и M156Q, соответственно, по нумерации химотрипсина) обладает еще большей коагулянтной активностью.

II. Другие мутации в положении 286.

Глутамин в положении, соответствующем положению 286 последовательности полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, может быть заменен другой аминокислотой, не относящейся к основным аминокислотам (т.е. отличной от аргинина, гистидина и лизина). Такие замены могут изменить конформацию оксианионной впадины и, например, привести к конформации, которая увеличит каталитическую активность модифицированного полипептида FVII по сравнению с полипептидом FVII дикого типа. Модифицированные полипептиды FVII с измененной конформацией оксианионной впадины могут обладать каталитической активностью, повышенной приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с каталитической активностью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа, измеренной in vivo, ex vivo, или in vitro.

В табл. 6 представлены не ограничивающие примеры аминокислотных замен в положении Q286, кроме замены на аргинин, соответствующие аминокислотным позициям последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3. Как уже отмечалось, такие полипептиды FVII обладают измененной конформацией оксианионной впадины на более эффективную конформацию и, следовательно, обладают увеличенной коагулянтной активностью. При описании таких мутаций первая аминокислота (однобуквенная аббревиатура) соответствует аминокислоте, которая заменяется, ее номер соответствует положению аминокислоты в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, а вторая аминокислота (однобуквенная аббревиатура) соответствует выбранной аминокислоте, которая заменяет первую аминокислоту в этом положении. Положения аминокислот для мутаций также обозначаются по нумерации химотрипсина. В табл. 6 ниже приведены номера по идентификатору после-

довательностей (SEQ ID NO), в котором приведены примеры аминокислотных последовательностей модифицированного полипептида FVII.

Таблица 6

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
Q286N	Q143N	113
Q286E	Q143E	114
Q286D	Q143D	115
Q286S	Q143S	116
Q286T	Q143T	117
Q286A	Q143A	120
Q286V	Q143V	121
Q286M	Q143M	122
Q286L	Q143L	123
Q286Y	Q143Y	124
Q286G	Q143G	125
Q286F	Q143F	126
Q286I	Q143I	127
Q286P	Q143P	128
Q286W	Q143W	130

Модифицированные полипептиды FVII с измененной конформацией оксианионной впадины могут обладать каталитической активностью, повышенной приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с каталитической активностью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа, измеренной in vivo, ex vivo, или in vitro. В некоторых примерах модифицированные полипептиды FVII с измененной конформацией оксианионной впадины также могут обладать повышенной устойчивостью к эндогенным ингибиторам протеаз (т.е. сниженной скоростью ингибирования или уменьшенной аффинностью к ингибиторам), таким как TFPI или AT-III, примерно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению со скоростью ингибирования или аффинностью к эндогенным ингибиторам немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo, ex vivo, или in vitro. Увеличенная каталитическая активность и/или устойчивость к эндогенным ингибиторам, такая как устойчивость к AT-III, модифицированного полипептида FVII также может проявляться как повышенная коагулянтная активность, повышенная продолжительность коагулянтной активности, ускоренное наступление коагулянтной активности и/или увеличенный терапевтический индекс. Например, коагулянтная активность модифицированного полипептида FVII может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с коагулянтной активностью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo, ex vivo, или in vitro.

2. Повышенная устойчивость к AT-III.

Антитромбин III (также известный как антитромбин или AT-III) является важным антикоагулянтом-серпином (ингибитор сериновой протеазы). AT-III синтезируется в виде белка-предшественника, содержащего 464 аминокислотных остатка (SEQ ID NO: 122). В ходе секреции сигнальный пептид из 32 остатков отщепляется с образованием зрелого антитромбина человека из 432 аминокислот (SEQ ID NO: 123). Гликопротеин AT-III с молекулярной массой 58 кДа циркулирует в крови и функционирует как ингибитор сериновых протеаз (серпин) и ингибирует большое число сериновых протеаз системы коагуляции. Основными мишенями AT-III являются тромбин и фактор Xa, хотя было показано, что AT-III также подавляет активность FIXa, FXIa, FXIIa и, в меньшей степени, FVIIa. Действие AT-III значительно усиливается гликозаминогликанами, такими как природный гепаран сульфат или различные полученные из ткани гепарины, которые широко используются в качестве антикоагулянтов в клинической практике. AT-III определенным образом связывает уникальную пентасахаридную последовательность в гепарине, что индуцирует конформационные изменения в петле реакционного центра. В такой конформации петля реакционного центра AT-III может более эффективно взаимодействовать с реакционном центром сериновых протеаз и приводить к ингибированию. AT-III, как правило, не ингибирует свободный FVIIa плазмы даже в присутствии гепарина, вероятно, из-за зимогеноподобной конформации FVIIa, которая препятствует эффективному взаимодействию с AT-III. Однако ингибирующее действие AT-III увеличивается при образовании комплекса FVIIa с ТФ. Связывание AT-III с комплексом ТФ/FVIIa может привести к отделению FVIIa от ТФ, при этом FVIIa остается в неактивном состоянии в комплексе с AT-III. Повышенная аффинность AT-III к связавшему ТФ белку FVIIa по сравнению со свободным FVIIa предположительно отражает созревание активного центра FVIIa при образовании комплекса с ТФ, что делает его восприимчивым к связыванию AT-III (Rao и др., (1993) Blood 81: 2600-2607). Таким образом, влияние AT-III на FVIIa пропорционально собственной активности молекулы FVIIa, если в полипептид FVIIa не

были введены мутации, опосредующие устойчивость к AT-III. Если FVIIa сохраняет свою зимогеноподобную конформацию, AT-III не оказывает на него большого эффекта. Если, однако, FVIIa изменяет конформацию на более активную, например, путем связывания ТФ или за счет специфичных изменений in vitro, ингибирование AT-III значительно увеличивается. FVIIa полипептиды, которые были модифицированы для увеличения собственной активности, часто демонстрируют одновременное увеличение восприимчивости к ингибированию AT-III. Например, модификация одной или нескольких аминокислот в активационном кармане FVIIa, например, путем аминокислотных замен K337A, L305V, M298Q, V158D и E296V (по последовательности зрелого FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3), приводит к увеличению чувствительности полипептида FVIIa к AT-III, тем самым подавляя активность FVIIa на 90% (Persson и др., (2001) PNAS 98:13583-13588). В другом примере индукция более зимогеноподобной конформации модификацией аминокислот в α-спирали FVIIa при повышении активности модифицированного белка FVIIa также увеличивает его восприимчивость к AT-III (Persson и др., (2004) Biochem. J. 379:497-503).

Примеры модификаций для повышения устойчивости к AT-III.

В полипептид FVII могут быть введены модификации, которые увеличивают его устойчивость к AT-III. Как правило, такие модифицированные полипептиды FVII сохраняют по меньшей мере одну активность полипептида FVII. Как правило, такие модификации включают одну или несколько аминокислотных замен в любом положении полипептида FVII, которые участвуют во взаимодействии FVIIa с AT-III. Такие модификации могут, например, привести к снижению связывания модифицированного FVII с AT-III. Модифицированные полипептиды FVII устойчивы к естественному ингибиторному действию AT-III в отношении инициации коагуляции. При оценке в соответствующем анализе in vitro или in vivo, например, при введении FVII субъекту в качестве прокоагулянта, модифицированные устойчивые к AT-III полипептиды FVII проявляют увеличенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированными полипептидами FVII. Как описано здесь ниже, специалист в области техники может эмпирически или рационально сконструировать модифицированные полипептиды FVII, проявляющие повышенную устойчивость к AT-III. Такие модифицированные полипептиды FVII могут быть исследованы с помощью известных специалисту в области техники подходов на предмет проявления указанными модифицированными полипептидами FVII повышенной устойчивости AT-III. Например, такие модифицированные полипептиды могут быть проверены на связывание с AT-III. Как правило, модифицированные полипептиды FVII, которые обладают повышенной устойчивостью к AT-III, проявляют уменьшенное связывание и/или уменьшенную аффинность к AT-III. Как правило, указанные исследования проводят на двухцепочечной форме FVII, такой как активированная форма FVII (FVIIa). Кроме того, анализы для определения эффектов AT-III, как правило, проводят в присутствии гепарина и в присутствии тканевого фактора, хотя такие тесты также могут быть выполнены в отсутствие одного или обоих кофакторов.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, обладающие повышенной устойчивостью к AT-III. Важна устойчивость к ингибированию AT-III как в присутствии, так и в отсутствие ТФ. Предусмотренные в настоящем документе варианты полипептида FVII включают модификации одной или нескольких аминокислот в позициях 239, 931, 366 и 373 (соответствующих аминокислотным позициям 99, 170i, 217 и 224, соответственно, по нумерации химотрипсина). Эти аминокислотные остатки могут быть модифицированы заменой, удалением или замещением аминокислот. Указанные остатки могут быть заменены или замещены любой другой аминокислотой. Альтернативно, для изменения конформации целевых аминокислотных остатков или структуры белка в непосредственной близости от целевых аминокислотных остатков могут быть использованы вставки аминокислот. Любой аминокислотный остаток может быть заменен на эндогенный аминокислотный остаток в конкретной позиции. Как правило, заменяющую аминокислоту выбирают так, что она препятствует взаимодействию между FVII и AT-III. В некоторых примерах остаток треонина в положении 239 (соответствует положению 99 по нумерации химотрипсина) заменяют на остаток серина (Ser, S), аспарагина (Asn, N), глутамина (Gln, Q), валина (Val, V), лейцина (Leu, L), гистидина (His, H) или изолейцина (Ile, I). В других примерах, пролин в позиции 321 (соответствует положению 170i по нумерации химотрипсина) заменяют на лизин (Lys, K), глутаминовую кислоту (Glu, E), серин (Ser, S) или тирозина (Tyr, Y). В дополнительных примерах глутамин в положении 366 (соответствует положению 217 по нумерации химотрипсина) заменяют на аспарагин (Asn, N), аспарагиновую кислоту (Asp, D), глутаминовую кислоту (Glu, E), серин (Ser, S), треонин (Thr, T), лизин (Lys, K) или валин (Val, V). В других примерах гистидин в положении 373 (соответствует положению 224 по нумерации химотрипсина) заменяют на остаток аспарагиновой кислоты (Asp, D), глутаминовой кислоты (Glu, E), серина (Ser, S), фенилаланина (Phe, F) или аланина (Ala, A). В другом варианте могут быть получены комбинации мутаций. Среди таких комбинаций мутаций есть комбинации, включающие две или более мутаций остатков T239, P321, Q366 и H373 (которые соответствуют остаткам T99, P170i, Q217 и H224, соответственно, по нумерации химотрипсина). Например, модифицированный полипептид FVII может обладать аминокислотными заменами в 2, 3, 4 или 5 указанных позициях. Следовательно, модифицированный полипептид может обладать 1, 2, 3, 4 или 5 мутациями, которые могут привести к увеличению устойчивости модифицированного полипептида FVII к ингибиторному действию AT-III. Например, полипептид FVII может быть модифицирован в положении 366 и положении 373. В некоторых примерах модификация представляет собой замену аминокислоты, напри-

мер замену глутамина в положении 366 на аспарагиновую кислоту и замену гистидина в положении 373 на глутаминовую кислоту. В табл. 7 приведены неограничивающие примеры аминокислотных замен в указанных остатках согласно положениям аминокислот в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3. В приведенные примеры включены примеры комбинаций мутаций. Как уже отмечалось, такие полипептиды FVII сконструированы для повышенной устойчивости к AT-III и, следовательно, увеличенной коагулянтной активности. При описании указанных мутаций первая аминокислота (однобуквенная аббревиатура) соответствует аминокислоте, которую заменяют, ее номер соответствует положению в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, а вторая аминокислота (однобуквенная аббревиатура) соответствует выбранной аминокислоте, которая заменяет первую аминокислоту в этом положении. Аминокислотные позиции для мутирования также обозначаются по нумерации химотрипсина. В табл. 7 ниже приведены номера по идентификатору последовательностей (SEQ ID NO), в котором приведены примеры аминокислотных последовательностей модифицированных полипептидов FVII.

Таблица 7

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
T239S	T99S	159
T239N	T99N	160
T239Q	T99Q	161
T239V	T99V	162
T239L	T99L	163
T239H	T99H	164
T239I	T99I	165
P321K	P170iK	166
P321E	P170iE	167
P321Y	P170iY	168
P321S	P170iS	169
Q366D	Q217D	170
Q366E	Q217E	171
Q366N	Q217N	172
Q366T	Q217T	173
Q366S	Q217S	174
Q366V	Q217V	175
Q366I	Q217I	176
Q366L	Q217L	177
Q366M	Q217M	178
H373D	H224D	179
H373E	H224E	180
H373S	H224S	181
H373F	H224F	182
H373A	H224A	183
Q366D/H373E	Q217D/ H224E	184
Q366V/H373V	Q217V/ H224V	185
Q366V/H373L	Q217V/ H224L	186
Q366V/H373I	Q217V/ H224I	187

Модифицированные полипептиды FVII с повышенной устойчивостью к AT-III могут проявлять уменьшенную степень ингибирования при определенных условиях или уменьшенную константу скорости второго порядка для ингибирования AT-III по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению со степенью ингибирования или константой скорости второго порядка для ингибирования немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro. Таким образом, модифицированные полипептиды FVII могут обладать устойчивостью к AT-III, повышенной по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с устойчивостью, проявляемой немодифицированным полипептидом FVII. Повышенная устойчивость к AT-III таких модифицированных полипептидов FVII также может проявляться в виде повышенной коагулянтной активности, увеличенной продолжительности коагулянтной активности и/или увеличенного терапевтического индекса в присутствии AT-III. Коагулянтная активность AT-III-модифицированных полипептидов FVII может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с коагулянтной активностью немодифицированных полипептидов FVII или полипептидов FVII дикого типа in vivo или in vitro.

3. Повышенная устойчивость к ингибированию Zn^{2+}.

Амидолитическая активность FVIIa регулируется аллостерическими изменениями, индуцируемыми связыванием ионов кальция и тканевого фактора (ТФ). Свободный FVII обычно существует в неактив-

ной конформации. Связывание с Ca^{2+} и ТФ индуцирует изменения конформации и увеличение амидолитической активности (Pederson и др., (1990) J. Biol. Chem. 265: 16786-16793). Напротив, было показано, что связывания ионов цинка с FVIIa ингибирует активность. Связывание Zn^{2+} с FVIIa приводит к снижению амидолитической активности и снижению аффинности к ТФ. Исследования показывают, что Ca^{2+} и Zn^{2+} конкурируют за связывание с FVIIa, поэтому в присутствии Ca^{2+} ингибиторное действие Zn^{2+} уменьшается. Кроме того, связавшийся с ТФ белок FVIIa менее восприимчив к ингибированию цинком.

В дополнение к сайтам связывания Zn^{2+} в домене Gla, связывание Zn^{2+} с которыми не влияет на амидолитическую активность FVIIa, были найдены два сайта связывания Zn^{2+} на протеазном домене FVII (Petersen и др., (2000) Protein Sci. 9: 859-866, Bajaj и др., (2006) J. Biol. Chem. 281: 24873-24888). Первый сайт связывания Zn^{2+} включает в себя боковые цепи аминокислотных остатков H216, E220 и S222 (H76, E80 и S82 по нумерации химотрипсина), а второй сайт связывания Zn^{2+} включает в себя боковые цепи аминокислотных остатков H257, D219 и K161 (H117, D79 и K24 по нумерации химотрипсина).

Zn^{2+}, следовательно, может иметь физиологическую роль в регуляции гомеостаза в качестве ингибитора FVII. Высказывалось предположение, что ингибиторный эффект возникает в результате увеличения концентрации Zn^{2+} в месте образования сгустка после активации тромбоцитов (Bajaj и др., (2006) J. Biol. Chem. 281:24873-24888). В тромбоцитах в цитоплазме и в α-гранулах, которые высвобождаются при активации тромбоцитов, хранится большое количество Zn^{2+}. Это может привести к увеличению локальной концентрации Zn^{2+}, который, в свою очередь, может ингибировать активность FVIIa и связывание FVIIa с ТФ.

Примеры модификаций для повышения устойчивости к ингибированию Zn^{2+}.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, проявляющие повышенную устойчивость к ингибиторному эффекту Zn^{2+}. Это может быть достигнуто, например, за счет мутации одного или нескольких остатков в FVII, вовлеченных во взаимодействие и связывание с Zn^{2+}, что уменьшит или предотвратит такое связывание, что сделает модифицированные полипептиды FVII устойчивыми к ингибированию каталитической активности и связывания ТФ ионами Zn^{2+}. При оценке в соответствующем анализе in vitro или in vivo, например, при введении субъекту в качестве прокоагулянта модифицированные полипептиды FVII могут проявлять повышенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, обладающие одной или несколькими мутациями остатков, которые могут быть вовлечены в связывание Zn^{2+} протеазным доменом. Такие остатки включают, но не ограничиваются K161, H216, D219, E220, S222 и H257 по нумерации аминокислотной последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3 (соответствуют K24, H76, D79, E80, S82 и H117, соответственно, по нумерации химотрипсина). В некоторых примерах один или более аминокислотных остатков H216, H257 и S222 (соответствуют H76, S82 и H117 по нумерации химотрипсина) были модифицированы, например, путем замены или удаления аминокислот. Любой аминокислотный остаток может быть использован для замены эндогенного остатка в указанном положении. Например, в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, в которых остаток гистидина в положении 216 заменен на остаток серина, аланина, лизина и аргинина. В другом примере серин в положении 222 заменен на остаток аланина или лизина или гистидин в положении 257 заменен на остаток аланина или серина. В дополнительном варианте лизин в положении 161 заменен на остаток серина, аланина и валина. Модификации также включают вставки аминокислот в положения, которые вовлечены в связывание Zn^{2+}, или вставки аминокислот рядом с указанными положениями. Такие вставки могут нарушить сайт связывания Zn^{2+}, в результате чего модифицированные полипептиды FVII будут обладать сниженным связыванием с Zn^{2+}.

Также могут быть созданы комбинации мутаций, в которых аминокислотные замены затронули более чем один из вышеуказанных остатков в полипептиде FVII. Среди таких комбинаций мутаций присутствуют комбинации, включающие две или более мутации остатков из K161, H216, D219, E220, S222 и H257 (соответствующих остаткам K24, H76, D79, E80, S82 и H117, соответственно, по нумерации химотрипсина). Например, модифицированные полипептиды FVII могут обладать аминокислотными заменами по 2, 3, 4, 5 или 6 указанным позициям. Следовательно, модифицированный полипептид может включать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 мутаций, которые могут привести к снижению способности модифицированного полипептида FVII связывать Zn^{2+}. Например, полипептид FVII может быть модифицирован заменой аминокислоты серина в положении 222 на лизин и заменой гистидина в положении 257 на аланин.

Модифицированные полипептиды FVII с повышенной устойчивостью к ингибиторному эффекту Zn^{2+} могут проявлять устойчивость, повышенную по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с устойчивостью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro. Уменьшение связывания с Zn^{2+} и, следовательно, повышенная устойчивость к ингибиторному эффекту Zn^{2+} также может проявляться такими модифицированными полипептидами FVII, как повышенная коагулянтная активность в присутствии Zn^{2+}. Коагулянтная активность модифицированных полипептидов FVII может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с коагулянтной активностью немодифицированного

полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro.

В табл. 8 приведены не ограничивающие примеры аминокислотных замен в указанных остатках согласно положениям в последовательности аминокислот зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3. Среди них приведены примеры комбинаций мутаций. Как уже отмечалось, такие полипептиды FVII проявляют пониженную способность связывать Zn^{2+} и, следовательно, проявляют повышенную устойчивость к ингибиторному эффекту Zn^{2+}. Таким образом, модифицированные полипептиды FVII могут проявлять увеличенную коагулянтную активность. При описании таких мутаций первая аминокислота (однобуквенная аббревиатура) соответствует аминокислоте, которая заменяется, ее номер соответствует положению аминокислоты в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, а вторая аминокислота (однобуквенная аббревиатура) соответствует выбранной аминокислоте, которая заменяет первую аминокислоту в этом положении. Аминокислотные позиции для мутирования также обозначаются по нумерации химотрипсина. В табл. 8 ниже приведены номера по идентификатору последовательностей (SEQ ID NO), в котором приведены примеры аминокислотных последовательностей модифицированных полипептидов FVII.

Таблица 8

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
K161S	K24S	188
K161A	K24A	189
K161V	K24V	190
H216S	H76S	191
H216A	H76A	192
H216K	H76K	193
H216R	H76R	194
S222A	S82A	195
S222K	S82K	196
S222V	S82V	197
S222N	S82N	198
S222E	S82E	199
S222D	S82D	200
H257A	H117A	201
H257S	H117S	202
S222K/H257A	S82K/H117A	203
H216A/H257A	H76A/H117A	204
H216A/S222A	H76A/S82A	205

4. Измененное гликозилирование.

Свойства и активности белка могут быть изменены путем изменения степени, уровня и/или типа гликозилирования. Например, гликозилирование может увеличить время полураспада полипептидов в сыворотке за счет повышения стабильности, растворимости и снижения иммуногенности белков. Гликозилирование может увеличить стабильность белков за счет уменьшения протеолиза белка и может защитить белок от термической деструкции, воздействия денатурирующих агентов, ущерба от свободных радикалов кислорода, а также изменения pH. Гликозилирование также может позволить целевому белку избежать клиренса, который может включать связывание с другими белками, в том числе рецепторами клеточной поверхности. Углеводные фрагменты, которые содержат остатки сиаловой кислоты, могут повлиять на растворимость белка. Остатки сиаловой кислоты высоко гидрофильны и могут защитить гидрофобные остатки целевого белка. Это уменьшает агрегацию и осаждение целевого белка. Снижение агрегации также помогает предотвратить иммунный ответ против целевого белка. Кроме того, углеводы могут экранировать иммуногенные последовательности от иммунной системы. Объем пространства, занимаемый углеводным фрагментом, может уменьшить площадь поверхности, доступной для иммунной системы. Эти свойства ведут к уменьшению иммуногенности целевого белка.

Сайты гликозилирования представляют собой место прикрепления моносахаридов и олигосахаридов к полипептиду через гликозидную связь так, что, если полипептид производится в эукариотической клетке, способной к гликозилированию, он гликозилируется. Два основных типа гликозилирования представляют собой N-гликозилирование, где сахара крепятся через амидный азот остатка аспарагина, и O-гликозилирование, где сахара крепятся через гидроксильные группы остатков серина, треонина, гидроксилизина или гидроксипролина. Другие, минорные формы гликозилирования включают S-связь с цистеином и C-связь с триптофаном. N-гликозилирование происходит по остатку аспарагина в консенсус-

ной последовательности -Asn-Xaa-Ser/Thr/Cys, где Xaa не представляет собой пролин. Для O-гликозилирования не существует известных мотивов, хотя O-гликозилирование более вероятно для последовательности с высоким содержанием остатков серина, треонина и пролина. Наличие потенциального сайта гликозилирования, однако, не гарантирует, что сайт будет гликозилирован во время посттрансляционной модификации в ЭР. Кроме того, уровень гликозилирования в данном сайте может варьировать, и один сайт может иметь много различных структур гликана. В FVII существуют четыре естественных сайта гликозилирования, два сайта N-гликозилирования в N145 и N322 и два сайта O-гликозилирования в S52 и S60 согласно положениям аминокислотной последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3.

Примеры модификаций для изменения гликозилирования.

В настоящем документе предусмотрены полипептиды FVII, которые были модифицированы путем изменения уровня и/или типа гликозилирования по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Гликозилирование может быть увеличено или уменьшено по сравнению с немодифицированным FVII. В некоторых случаях уровень гликозилирования увеличивается, в результате чего образуется гипергликозилированный полипептид FVII. Это может быть достигнуто, например, введением по меньшей мере одного ненативного сайта гликозилирования, не присутствующего в немодифицированном полипептиде, к которому присоединен углеводный фрагмент. Гипергликозилированный полипептид FVII также может быть получен присоединением углеводного фрагмента по меньшей мере к одному нативному сайту гликозилирования, который присутствует в немодифицированном полипептиде FVII, но не гликозилирован. В других примерах уровень гликозилирования в модифицированном полипептиде FVII уменьшается по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Это может быть достигнуто путем устранения одного или более нативных сайтов гликозилирования, например, путем замены или удаления аминокислот. Один или несколько аминокислотных остатков в положениях 52, 60, 145 и 322 по нумерации последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, могут быть удалены или могут быть заменены на аминокислоты, которые не могут быть связаны с углеводным фрагментом. Например, остаток серина в положении 52 и/или 60 может быть заменен на остаток аланина, устранив тем самым один или оба нативных сайта O-гликозилирования. Таким образом, сайты гликозилирования в полипептиде FVII могут быть введены, изменены, устранены или перемещены.

Полипептид FVII может быть модифицирован по одному или нескольким положениям для изменения гликозилирования полипептида. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, обладающие измененным гликозилированием по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII, могут не иметь гликозилирования, могут иметь O-гликозилирование, N-гликозилирование и/или их сочетание. В некоторых примерах модифицированные полипептиды FVII включают 1, 2, 3, 4, 5 или больше углеводных фрагментов, каждый из которых связан со своим сайтом гликозилирования.

Сайты гликозилирования могут быть нативными сайтами гликозилирования и/или ненативными сайтами гликозилирования. В некоторых примерах модифицированные полипептиды FVII гликозилированы более чем по одному ненативному сайту гликозилирования. Например, модифицированные полипептиды FVII могут быть модифицированы введением 1, 2, 3, 4, 5 или более ненативных сайтов гликозилирования. Ненативные сайты гликозилирования могут быть введены с помощью аминокислотных замен.

Сайты O-гликозилирования могут быть созданы, например, путем замены нативной аминокислоты на остатки серина или треонина. Сайты N-гликозилирования могут быть созданы введением мотива Asn-Xaa-Ser/Thr/Cys, где Xaa не представляет собой пролин. Создание указанной консенсусной последовательности аминокислот модификацией аминокислот может включать замену нативного аминокислотного остатка на аспарагин, замену нативного аминокислотного остатка на серин, треонин и цистеин, или замену нативного аминокислотного остатка на аспарагин и замену нативного аминокислотного остатка на серии, треонин и цистеин. Например, для создания нового мотива Asn-Xaa-Ser в домене EGF1 и нового сайта N-гликозилирования в положении 109 лизин в положении 109 (по нумерации последовательности зрелого FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3) может быть заменен на аспарагин. В еще одном примере для создания нового мотива Asn-Xaa-Ser и нового сайта N-гликозилирования в положении 292 аланин в положении 292 заменяют на аспарагин и аланин в положении 294 заменяют на серии. В другом примере для создания нового мотива Asn-Xaa-Ser в аминокислотных позициях 173-175 (по нумерации последовательности зрелого FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3) и нового сайта N-гликозилирования в положении 173 аланин в положении 175 заменяют на серин. Ненативный сайт гликозилирования может быть создан в любом районе полипептида FVII. Например, один или несколько сайтов гликозилирования могут быть введены в домен EGF1, который соответствует аминокислотным позициям 46-82 зрелого полипептида FVII в SEQ ID NO: 3. В других примерах ненативный сайт гликозилирования вводят в протеазный домен полипептида FVII или в позиции, которые связываются с протеазным доменом после сворачивания белка.

Нативные сайты гликозилирования могут быть модифицированы для предотвращения гликозилирования или повышения или уменьшения гликозилирования, в то время как другие позиции в полипептиде FVII могут быть изменены для введения ненативного сайта гликозилирования. В некоторых примерах может быть изменен состав углеводов полипептида FVII. Например, могут быть изменены номер

положения, прочность связи, структура и состав углеводных связей (т.е. структура углевода на основе природы гликозидных связей или ветвей углевода) углеводных фрагментов, добавленных к полипептидну FVII.

Предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII с измененным гликозилированием сохраняют по меньшей мере одну активность FVII. Как правило, модифицированные полипептиды FVII с измененным гликозилированием, предусмотренные в настоящем документе, обладают повышенной коагулянтной активностью по сравнению с немодифицированным FVII. В некоторых примерах уровень гликозилирования полипептида FVII увеличен. Уровень гликозилирования может быть увеличен по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с уровнем гликозилирования немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа. В других примерах уровень гликозилирования уменьшен. Уровень гликозилирования может быть уменьшен по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с уровнем гликозилирования немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа. Измененный уровень гликозилирования или измененный тип гликозилирования модифицированного полипептида FVII по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII может проявляться как повышенная коагулянтная активность. Коагулянтная активность модифицированного полипептида FVII с измененным гликозилированием может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с коагулянтной активностью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro.

В табл. 9 приведены не ограничивающие примеры аминокислотных замен (согласно положениям аминокислот последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3), введенных в модифицированный полипептид FVII для изменения уровня гликозилирования путем добавления или устранения сайтов гликозилирования. Аминокислотные замены, приведенные в качестве примеров, могут привести к созданию ненативного сайта гликозилирования или устранению нативного сайта гликозилирования. В некоторых случаях для создания нового сайта гликозилирования необходимы две аминокислотные замены. Кроме того, в табл. 9 приведены примеры комбинаций мутаций, которые приводят более чем к одному новому ненативному сайту гликозилирования в полипептиде FVII. Как отмечалось выше, изменение уровня гликозилирования может привести, например, к увеличению периода полураспада. Таким образом, модифицированные полипептиды FVII могут обладать увеличенной коагулянтной активностью. При описании таких мутаций первая аминокислота (однобуквенная аббревиатура) соответствует аминокислоте, которая заменяется, ее номер соответствует положению аминокислоты в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, а вторая аминокислота (однобуквенная аббревиатура) соответствует выбранной аминокислоте, которая заменяет первую аминокислоту в этом положении. Аминокислотные позиции для мутирования также обозначаются по нумерации химотрипсина, где это необходимо. В случае, если положение модифицируемой аминокислоты не имеет соответствующего номера по химотрипсину (т.е. положение не относится к положениям с 153 по 406 последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, и не указано в табл. 1 выше), положение обозначается в скобках с использованием нумерации зрелого FVII. Например, A51N не имеет соответствующего номера по химотрипсину и приводится в виде A[51]N в контексте нумерации химотрипсина. В табл. 9 ниже приведены номера по идентификатору последовательностей (SEQ ID NO), в котором приведены примеры аминокислотных последовательностей модифицированных полипептидов FVII. Также в табл. 9 приведены все новые ненативные сайты гликозилирования (сайт гликозилирования), полученные в результате модификаций (модификации).

Таблица 9

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	Ненативный сайт гликозилиро-вания (нумерация зрелого FVII)	Ненативный сайт гликозили-рования (нумерация химотрип-сина)	SEQ ID NO
S52A	S[52]A	ничего	ничего	206
S60A	S[60]A	ничего	ничего	207
E394N/P395A/R396S	E245N/P246A/R247S	N394	N245	208
R202S	R62S	N200	N60d	209
A292N/A294S	A150N/A152S	N292	N150	210
G318N	G170fN	N318	N170f	211
A175S	A39S	N173	N37	212
K109N	K[109]N	N109	N[109]	213
A122N/G124S	A[122]N/G[124]S	N122	N[122]	214
A51N	A[51]N	N51	N[51]	215
T130N/E132S	T[l30]N/E[132]S	N130	N[130]	216
A122N/G124S/ E394N/P395A/R396S	A[122]N/G[124]S/ E245N/P246A/R247S	N122 и N394	N[122] и N245	217
A122N/G124S/ E394N/P395A/R396S/ G318N	A[122]N/G[124]S/ E245N/P246A/R247S/ G170fN	N122, N394 и N318	N[122], N245 и N318	218
S52A/S60A	S[52]A/S[60]A	ничего	ничего	219
S52N/P54S	S[52]N/P[54]S	N52	N[52]	220
S119N/L121S	S[119]N/L[121]S	N119	N[119]	221
T128N/P129A	T[128]N/P[129]A	N128	N[128]	222
Q66N/Y68S	Q[66]N/Y[68]S	N66	N[66]	223
S52N/P54S/A122N/G124S/E394N/P395A/R396S	S[52]N/P[54]S/A[122]N/G[124]S/E245N/P246A/R247S	N52, N122 и N397	N[52], N[122] и N245	224
K109N/A292N/A294S	K[109]N/A150N/A152S	N109 и N292	N[109] и N150	225
K109N/A175S	K[109]N/A39S	N109 и N173	N[109] и N37	226
S119N/L121S/A175S	S[119]N/L[121]S/A39S	N119 и N173	N[119] и N37	271
T128N/P129A/A175S	T[128]N/P[129]A/A39A	N128 и N173	N[128] и N37	272
A122N/G124S/A175S	A[122]N/G[124]S/A39S	N122 и N173	N[122] и N37	273

5. Увеличение связывания сывороточного альбумина и/или интегрина тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$.

Рекомбинантный немодифицированный FVII обладает периодом полураспада в сыворотке человека всего 1,5-3 ч. Увеличение периода полураспада полипептида FVII в сыворотке может уменьшить количество и частоту введения, необходимые для терапевтического эффекта. Для увеличения периода полураспада в сыворотке могут быть использованы несколько стратегий, включая, но не ограничиваясь увеличением гликозилирования, увеличением устойчивости к протеазам, пегилированием и конъюгированием или слиянием с более крупными белками, такими как сывороточный альбумин и Fc-фрагмент IgG. Такие изменения могут привести, например, к снижению деградации полипептида FVII протеазами сыворотки, снижению почечного клиренса, снижению печеночного клиренса и снижению нейтрализации или клиренса иммунной системой. Другая стратегия, которая может быть использована для увеличения периода полураспада полипептида FVII в сыворотке, включает перенос связывающей последовательности в немодифицированный полипептид FVII для создания новых или улучшенных белок-белковых взаимодействий, которые не наблюдаются в немодифицированном полипептиде FVII.

Связывающие последовательности, которые могут быть вставлены в немодифицированный полипептид FVII, могут содержать приблизительно 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30 или более аминокислотных остатков и обеспечивать взаимодействие с другими белками. Связывающие последовательности могут соответствовать связывающим последовательностям, естественным образом присутствующим в нативном белке, или связывающие последовательности могут представлять собой синтетические связывающие последовательности с малой корреляцией или отсутствием корреляции последовательно-

сти со связывающей последовательностью, естественным образом присутствующей в нативном белке. Связывающие последовательности, использованные здесь для модификации полипептидов FVII, специфически взаимодействуют с сайтом связывания на другом белке с образованием нековалентных белок-белковых взаимодействий. В некоторых примерах белок, к которому специфична связывающая последовательность, представляет собой сывороточный белок, такой как, например, сывороточный альбумин. Такие последовательности хорошо известны в уровне техники (см., например, US 20030069395, US 20040009534 и US 20070202045). В других примерах распознаваемый связывающей последовательностью белок представляет собой рецептор клеточной поверхности или лиганд, такой как, например, интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ (Smith и др., (1995) J. Biol. Chem. 270:30486-30490). Аффинность связывания модифицированного полипептида FVII с белком сыворотки или рецептором клеточной поверхности, как правило, характеризуется константой диссоциации, Kd, составляющей 1 мкМ, 100, 10, 1 нМ, 100, 10, 1 пМ или меньше. Связывание модифицированного полипептида FVII с белком сыворотки или рецептором клеточной поверхности через связывающую последовательность может уменьшить, например, почечный клиренс или печеночный клиренс модифицированного полипептида FVII по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. В некоторых примерах связывание модифицированного полипептида FVII с рецептором клеточной поверхности также может направлять модифицированный полипептид FVII к нужной клетке, типу ткани или району в организме, тем самым "концентрируя" полипептид FVII в определенном месте, например в месте образования сгустка крови. Таким образом, модифицированные полипептиды FVII, содержащие вставленную связывающую последовательность, могут обладать увеличенным периодом полураспада по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII.

a. Примеры полипептидов FVII со связывающей сывороточный альбумин последовательностью.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие связывающую сывороточный альбумин последовательность. Модифицированные полипептиды FVII могут связывать сывороточный альбумин in vitro или in vivo, в результате чего увеличивается период полураспада белка. Таким образом, в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII с увеличенным периодом полураспада по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. При оценке в соответствующем анализе in vitro или in vivo, например при введении FVII субъекту в качестве прокоагулянта, модифицированные полипептиды FVII могут проявлять увеличенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII.

Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут содержать связывающую сывороточный альбумин последовательность. Связывающая сывороточный альбумин последовательность может быть вставлена в немодифицированный полипептид FVII или может быть связана с C-концом или N-концом полипептида FVII. Например, связывающая сывороточный альбумин последовательность может начинаться от остатка пролина в положении 406 на C-конце полипептида FVII (согласно последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3). Если связывающая последовательность вставлена в полипептид FVII, вставка осуществляется в такое положение, что полученный модифицированный FVII полипептид сохраняет по меньшей мере один вид активности немодифицированного полипептида FVII. Связывающая последовательность может быть вставлена в полипептид FVII без удаления каких-либо аминокислотных остатков в полипептиде FVII или может заменить один или более аминокислотных остатков в полипептиде FVII. В некоторых примерах для создания модифицированного полипептида FVII связывающая сывороточный альбумин последовательность заменяет аминокислотные остатки с S103 до S111 (согласно последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3). В других примерах связывающая сывороточный альбумин последовательность заменяет аминокислотные остатки с H115 до S126 или с T128 до P134 (согласно последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3). Примеры связывающих сывороточный альбумин последовательностей приведены в SEQ ID NO: 206-212.

В табл. 10 приведены не ограничивающие примеры модификаций, которые могут быть введены, чтобы вставить в полипептид FVII связывающую сывороточный альбумин последовательность. Как отмечалось выше, введение связывающей сывороточный альбумин последовательности может увеличить период полураспада полипептида FVII. Таким образом, модифицированные полипептиды FVII могут обладать увеличенной коагулянтной активностью. Аминокислотные остатки, по которым вставляют связывающую сывороточный альбумин последовательность в полипептид FVII, и последовательность связывающей последовательности представлены в табл. 10. Например, S103S111 удаление/вставка QRLMEDICLPRWGCLWEDDF указывает, что аминокислотные остатки с S103 до S111 по нумерации немодифицированного полноразмерного полипептида FVII (остатки соответствуют последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3) были удалены и заменены связывающей сывороточный альбумин последовательностью аминокислот QRLMEDICLPRWGCLWEDDF (SEQ ID NO: 206). Указание только одной аминокислоты, такой как P406, означает, что связывающая сывороточный альбумин последовательность вставлена после P406 и что из полипептида FVII не удаляли аминокислотные остатки. Аминокислоты для мутирования также обозначаются по нумерации химотрипсина, где это необходимо. Если модифицированные аминокислотные положения не имеют соответствующего номера по химотрипсину (т.е. положение не соответствует положениям с 153 до 406 последовательности зрелого

полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, и не указано в табл. 1 выше), положение обозначается в скобках с использованием нумерации зрелого FVII. Например, S103 не имеет соответствующего номера по химотрипсину и приводится в виде S[103] в контексте нумерации химотрипсина. В табл. 10 ниже приведены номера по идентификатору последовательностей (SEQ ID NO), в котором приведены примеры аминокислотных последовательностей модифицированных полипептидов FVII.

Таблица 10

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
S103S111удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	S[103]S[111]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	227
H115S126удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	H[115]S[126]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	228
T128P134удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	T[128]P[134]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	229
S103S111lудаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	S[103]S[111]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	230
H115S126удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	H[115]S[126]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	231
T128P134удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	T[128]P[134]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	232
S103S111удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	S[103]S[111]удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	233
H115S126удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	H[115]S[126]удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	234
T128P134удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	T[128]P[134]удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	235
P406вставкаIEDICLPRWGCLW	P257вставкаIEDICLPRWGCLW	236
P406вставкаGGGSIEDICLPRWGCLW	P257вставкаGGGSIEDICLPRWGCLW	237
P406вставкаDICLPRWGCLWED	P257вставкаDICLPRWGCLWED	238
P406вставкаGGGSDICLPRWGCLWED	P257вставкаGGGSDICLPRWGCLWED	239

Модифицированные полипептиды FVII, содержащие связывающую сывороточный альбумин последовательность, могут обладать способностью связывать сывороточный альбумин, повышенной по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению со связыванием сывороточного альбумина немодифицированным полипептидом FVII или полипептидом FVII дикого типа in vivo или in vitro. Модифицированные полипептиды FVII, которые могут связывать сывороточный альбумин, могут обладать увеличенным периодом полураспада в сыворотке по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с периодом полураспада в сыворотке немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro. Увеличенное связывание сывороточного альбумина и/или увеличенный период полураспада в сыворотке таких модифицированных полипептидов FVII также может проявляться как повышенная коагулянтная активность, повышенная продолжительность коагулянтной активности и/или увеличенный терапевтический индекс. Коагулянтная активность модифицированных полипептидов FVII может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с коагулянтной активностью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro.

b. Примеры полипептидов FVII со связывающей интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательностью.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие связывающую интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность. Интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ (также называемый гликопротеином (GP) IIb/IIIa) является наиболее распространенным рецептором адгезии тромбоцитов. Он представляет собой кальцийзависимый гетеродимер, который служит рецептором для белков, включающих, но не ограничивающихся, фибриноген, фибронектин, витронектин, фактор Виллебранда и тромбоспондин. Связывание с белком-лигандом может активировать $\alpha_{IIb}\beta_3$ и индуцировать передачу

сигнала в цитоплазму через внутриклеточный домен белка.

Модифицированные полипептиды FVII, содержащие связывающую интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность, следовательно, могут связываться с тромбоцитами. Модифицированные полипептиды FVII могут связывать интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ (в активированной и/или не активированной форме) in vitro или in vivo, что приводит к увеличению периода полураспада. Те варианты FVIIa, которые избирательно связывают активированный $\alpha_{IIb}\beta_3$, могут быть, следовательно, нацелены на активированные тромбоциты и, таким образом, сконцентрированы в месте образования сгустка крови. При избирательном нацеливании FVIIa на образующиеся сгустки крови можно было бы ожидать улучшения терапевтической полезности варианта FVIIa путем повышения эффективности и терапевтического индекса. Таким образом, в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII с увеличенным периодом полураспада по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII, и варианты полипептида, которые, кроме того, селективно связывают активированные тромбоциты. При оценке в соответствующих анализах in vitro или in vivo, например, при введении субъекту в качестве прокоагулянта, модифицированные полипептиды FVII могут проявлять увеличенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII.

Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, содержат связывающую интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность. Связывающая интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность может быть вставлена в немодифицированный полипептид FVII или может быть связана с С-концом или N-концом полипептида FVII. Например, связывающая $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность может начинаться от остатка пролина в положении 406 на С-конце полипептида FVII (согласно последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3). Если связывающая последовательность вставлена в полипептид FVII, вставка осуществляется в такое положение, что полученный модифицированный FVII полипептид сохраняет, по меньшей мере, один вид активности немодифицированного полипептида FVII. Связывающая последовательность может быть вставлена в полипептид FVII без удаления каких-либо аминокислотных остатков в полипептиде FVII или может заменить один или более аминокислотных остатков в полипептиде FVII. В некоторых примерах для создания модифицированного полипептида FVII связывающая интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность заменяет аминокислотные остатки с S103 до S111 (согласно последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3). В других примерах связывающая интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность заменяет аминокислотные остатки с H115 до S126 или с T128 до P134 (согласно последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3). Примеры связывающих интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательностей приведены в SEQ ID NO: 213-215.

В табл. 11 приведены не ограничивающие примеры модификаций, которые могут быть введены, чтобы вставить в полипептид FVII связывающую интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность. Как отмечалось выше, введение связывающей интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательности может увеличить период полураспада полипептида FVII в сыворотке и/или нацелить белок на образующийся сгусток крови. Таким образом, модифицированные полипептиды FVII могут проявлять увеличенную коагулянтную активность. Аминокислотные остатки, по которым вставляют связывающую интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность в полипептид FVII, и последовательность связывающей последовательности представлены в табл. 11.

Например, H115S126удаление/вставкаSFGRGDIRNV указывает, что аминокислотные остатки с H115 до S126 по нумерации немодифицированного полноразмерного полипептида FVII (остатки соответствуют последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3) были удалены и заменены связывающей интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательностью аминокислот SFGRGDIRNV (SEQ ID NO: 213). Указание только одной аминокислоты, такой как P406, означает, что связывающая интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность вставлена после P406 и что из полипептида FVII не удаляли аминокислотные остатки. Аминокислоты для мутирования также обозначаются по нумерации химотрипсина, где это необходимо. Если модифицированные аминокислотные положения не имеют соответствующего номера по химотрипсину (т.е. положение не соответствует положениям с 153 до 406 последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, и не указано в табл. 1 выше), положение обозначается в скобках с использованием нумерации зрелого FVII. Например, S103 не имеет соответствующего номера по химотрипсину и приводится в виде S[103] в контексте нумерации химотрипсина. В табл. 11 ниже приведены номера по идентификатору последовательностей (SEQ ID NO), в котором приведены примеры аминокислотных последовательностей модифицированных полипептидов FVII.

Таблица 11

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
S103S111удаление/вставкаSFGRGDIRNV	S[103]S[111]удаление/вставкаSFGRGDIRNV	240
H115S126удаление/вставкаSFGRGDIRNV	H[115]S[126]удаление/вставкаSFGRGDIRNV	241
T128P134удаление/вставкаSFGRGDIRNV	T[128]P[134]удаление/вставкаSFGRGDIRNV	242
P406вставкаCSFGRGDIRNVC	P257вставкаCSFGRGDIRNVC	243
P406вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC	P257вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC	244

Модифицированные полипептиды FVII, содержащие связывающую интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность, могут обладать повышенным связыванием с интегрином тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению со связыванием с интегрином тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo. Модифицированные полипептиды FVII, которые могут связываться с тромбоцитами через интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$, могут обладать увеличенным периодом полураспада по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с периодом полураспада немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vitro, in vivo или ex vivo. Увеличение периода полураспада таких модифицированных полипептидов FVII также может проявляться как повышенная коагулянтная активность, увеличенная продолжительность коагулянтной активности и/или увеличенный терапевтический индекс. Например, коагулянтная активность модифицированных полипептидов FVII может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с коагулянтной активностью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro.

6. Модификация введением гетерологичного домена Gla.

Взаимодействие остатков в γ-карбоксилированном домене Gla витамин K-зависимых белков плазмы, таких как FVII, FIX, FX, протромбин, белок C и белок S, и отрицательно заряженных фосфолипидов на поверхности мембраны имеет важное значение для гемостаза. Домен Gla витамин K-зависимых белков плазмы обычно содержит около 45 аминокислот, из которых от 9 до 12 остатков глутаминовой кислоты посттрансляционно модифицированы витамин K-зависимым карбоксилированием с образованием γ-карбоксиглутамата (Gla). Аминокислоты домена Gla расположены сразу после аминокислот сигнального пептида и пропептидной последовательности белков и, следовательно, находятся на N-конце зрелых белков после процессинга и расщепления полипептидов-предшественников. Например, аминокислоты, образующие домен Gla в FVII, находятся в положениях 39-83 последовательности полипептида-предшественника, приведенной в SEQ ID NO: 1, положениях 61-105 последовательности полипептида-предшественника, приведенной в SEQ ID NO: 2, и положениях 1-45 последовательности зрелого полипептида, приведенной в SEQ ID NO:3. Из них 10 остатков глутаминовой кислоты в положениях E6, E7, E14, E19, E20, E25, E26, E29 и E35 последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, модифицируются карбоксилированием с образования остатков γ-карбоксиглутамата (Gla). Из-за относительно низкой аффинности к активированным тромбоцитам домен Gla из FVII является мишенью для модификации с целью усиления взаимодействия между модифицированным FVII и фосфолипидами мембраны и увеличения коагулянтной активности. Модификация может быть осуществлена путем замещения конкретных аминокислот, которые участвуют в этом взаимодействии (см., например, Shah и др., PNAS 95: 4429-4234, Harvey и др., (2003) J. Biol. Chem. 278:8363-8369). Кроме того, модификация может быть осуществлена заменой всего домена Gla на домен Gla другого витамин K-зависимого белка, т.е. заменой Gla. Этот тип модификации приводит к химерным белкам, таким как белок, который был получен в результате заменены домена Gla белка C доменом Gla из FVII (Geng и др., (1997) Thromb Haemost 77:926-933). Как правило, такая модификация включает введение, например, путем вставки или замещения гетерологичного домена Gla или его достаточной для осуществления связывания фосфолипидов части в домен полипептида FVII с образованием химерного модифицированного полипептида FVII. Как правило, такой химерный полипептид FVII сохраняет хотя бы одну активность FVII. Связывание и/или аффинность Gla-модифицированного полипептида FVII к активированным тромбоцитам может быть увеличено по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению со связыванием и/или аффинностью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro. Связывание и/или аффинность модифицированного полипептида FVII к активированным тромбоцитам также может проявляться как повышение коагулянтной активности. Коагулянтная активность Gla-модифицированных по-

липептидов FVII может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с коагулянтной активностью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo или in vitro. Домен Gla или его достаточная для осуществления связывания фосфолипидов часть, включающая, например, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% гетерологичного домена Gla или более, содержащаяся в любом полипептиде, может быть использована как источник гетерологичного домена Gla для вставки или замены домена в полипептиде FVII. Как правило, такие гетерологичные домены Gla проявляют аффинность к фосфолипидам, например фосфолипидам, присутствующим на поверхности активированных тромбоцитов. Как правило, выбранный гетерологичный домен Gla проявляет более высокую аффинность к фосфолипидам по сравнению с аффинностью домена Gla из FVII. Конкретный домен Gla или его достаточная часть, используемые в качестве гетерологичного домена для модификации полипептида FVII, могут быть выбраны рационально или эмпирически. Примеры других Gla-содержащих полипептидов включают, но не ограничиваются, FIX, FX, протромбин, белок C, белок S, остеокальцин, белок Gla, Growth-arrest-specific белок 6 (Gas6) и белок Z. Домены Gla этих белков приведены в качестве примеров в любой из последовательностей SEQ ID NO: 83-91. Например, в полипептид FVII может быть введена непрерывная последовательность из 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40 или более аминокислот, или целый домен Gla, или гетерологичный домен Gla. Кроме того, введение домена Gla в полипептид FVII также может включать введение дополнительных аминокислот, не входящих в домен Gla гетерологичного полипептида, если дополнительные аминокислоты значительно не ослабляют способность введенного домена Gla связывать фосфолипиды.

В некоторых примерах домен Gla вводят в полипептид FVII, причем гетерологичный домен Gla вставляют в эндогенный домен Gla или в другой район или домен полипептида FVII, если модифицированный полипептид FVII сохраняет по меньшей мере одну активность FVII. В таких примерах нативный домен Gla полипептида FVII сохраняется в полипептиде, хотя в некоторых случаях последовательность аминокислот, которая составляет нативный домен Gla, прерывается. В других примерах гетерологичный домен Gla или его достаточную часть вставляют в непосредственной близости от нативного домена Gla на N-конце или C-конце так, что нативный домен Gla не прерывается. В дополнительном примере гетерологичный домен Gla или его достаточную часть вставляют в другой домен полипептида FVII. Кроме того, в настоящем документе предусмотрены полипептиды FVII с модифицированным доменом Gla, в которых весь эндогенный домен Gla из FVII или его непрерывную часть удаляют и заменяют на гетерологичный домен Gla или его достаточную для осуществления связывания фосфолипидов часть, если модифицированный полипептид FVII сохраняет хотя бы одну активность FVII. Такие модификации также называют заменой Gla. Примеры модификаций заменой Gla включают модификации, в которых эндогенный домен Gla заменен доменом Gla или частью домена Gla из FIX (SEQ ID NO: 83), FX (SEQ ID NO: 84), тромбина (SEQ ID NO: 85), белка C (SEQ ID NO: 86) и белка S (SEQ ID NO: 87). Такие модификации называются "замена Gla из FIX", "замена Gla из FX", "замена Gla из тромбина", "замена Gla из белка C" и "замена Gla из белка S" соответственно. Такие модифицированные полипептиды FVII обладают повышенным связыванием с активированными тромбоцитами, в результате чего увеличивается их коагулянтная активность. Модификация "замена Gla из FIX" включает удаление эндогенного домена Gla из FVII, т.е. удаление аминокислотных остатков с A1 до Y44 (остатки соответствуют положениям в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3), и вставку 45 аминокислотных остатков, которые соответствуют аминокислотным остаткам с Y1 до Y45 домена Gla из FIX, приведенного в SEQ ID NO: 83. Модификация "замена Gla из FX" включает удаление аминокислотных остатков с A1 до Y44 (остатки соответствуют положениям в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3), и вставку 44 аминокислотных остатков, которые соответствуют аминокислотным остаткам с A1 до Y44 домена Gla из FX, приведенного в SEQ ID NO: 84. Модификация "замена Gla из тромбина" включает удаление аминокислотных остатков с A1 до Y44 (остатки соответствуют положениям в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3) и вставку 44 аминокислотных остатков, которые соответствуют аминокислотным остаткам с Y1 до Y44 из Gla домена тромбина, приведенного в SEQ ID NO: 85. Модификация "замена Gla из белка C" включает удаление аминокислотных остатков с A1 до Y44 (остатки соответствуют положениям в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3) и вставку 44 аминокислотных остатков, которые соответствуют аминокислотным остаткам с A1 до H44 из домена Gla белка C, приведенного в SEQ ID NO: 86. Модификация "замена Gla из белка S" включает удаление аминокислотных остатков с A1 до Y44 (остатки соответствуют положениям в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3) и вставку 44 аминокислотных остатков, которые соответствуют аминокислотным остаткам с Y1 до Y44 из домена Gla белка S, приведенного в SEQ ID NO: 87. В некоторых примерах в гетерологичный домен Gla, который вводят в полипептид FVII, введены модификации, включая, но не ограничиваясь аминокислотными заменами или замещениями, вставками и/или удалениями. Такие модификации могут привести, например, к повышению связывания с активированными тромбоцитами из-за увеличения связывания с фосфолипидами по сравнению со связыванием, проявляемым гетерологичным доменом Gla дикого типа. Например, если Gla домен фактора IX или его связывающую фосфолипиды часть вводят в

полипептид FVII для создания модифицированного полипептида FVII, домен Gla фактора IX может содержать аминокислотные мутации, которые приводят к увеличенному связыванию фосфолипидов по сравнению с Gla доменом фактора IX дикого типа. Гетерологичный домен Gla, содержащийся в модифицированных полипептидах FVII по настоящему документу, может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более модификаций, таких как аминокислотные замены или замещения, вставки и/или удаления.

В некоторых примерах модификация (модификации) в гетерологичном домене Gla увеличивают связывание фосфолипидов. В других примерах гетерологичный домен Gla может содержать одну или несколько мутаций по сравнению с гетерологичным доменом Gla дикого типа, которые придают гетерологичному домену Gla FVII-подобные функции. Например, как отмечалось выше, остаток R36 домена Gla фактора FVII, приведенного в SEQ ID NO: 119, может быть вовлечен во взаимодействие с FX. Следовательно, гетерологичный домен Gla может содержать дополнительные модификации, такие как модификации, необходимые для поддержания функции аргинина в положении 36 последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3, или любые другие модификации, необходимые для поддержания способности модифицированного полипептида FVIIa активировать FX (Ruf и др., (1999) Biochem 38:1957-1966). Таким образом, в некоторых примерах в гетерологичный домен Gla может быть введена соответствующая мутация R36. Соответствующее положение может быть определено специалистом в данной области, например, путем выравнивания аминокислотных последовательностей. В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие модификацию заменой Gla, где домен вводят в полипептид FVII путем замены некоторой части или всего эндогенного домена FVII Gla, где гетерологичный домен Gla или его связывающая фосфолипиды часть содержит одну или несколько мутаций по сравнению с гетерологичным доменом Gla дикого типа. В одном примере модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, содержат модификацию "замена Gla из FIX", которая, как описано выше, включает в себя удаление эндогенного домена Gla фактора FVII, т.е. удаление аминокислотных остатков с A1 до Y44 (остатки соответствуют положениям в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3) и вставку 45 аминокислотных остатков, которые соответствуют аминокислотным остаткам с Y1 до Y45 в домене Gla белка FIX, приведенном в SEQ ID NO: 83. Домен Gla белка FIX, используемый для модификации заменой Gla, может содержать одну или несколько мутаций по сравнению с доменом Gla белка FIX дикого типа, приведенным в SEQ ID NO: 83, например, домен Gla может содержать 1, 2, 3, 4, 5 или более мутаций, таких как замены, удаления или вставки аминокислот. Например, гетерологичный домен Gla белка FIX в модифицированных "заменой Gla из FIX" полипептидах FVII может содержать одну или более аминокислотных замен в положениях, соответствующих положениям M19, E40, K43 и/или Q44 в домене Gla белка FIX, приведенном в SEQ ID NO: 83.

В одном примере домен Gla белка FIX содержит аминокислотную замену M19K. Такая модификация обозначается {замена Gla из FIX/M19K}, т.е. метионин в положении, соответствующем положению 19 в домене Gla белка FIX, приведенном в SEQ ID NO: 83, заменен на лизин. В другом примере модифицированный гетерологичный домен Gla белка FIX в модифицированном полипептиде FVII содержит аминокислотную замену E40L, что обозначается как {замена Gla из FIX/E40L}, т.е. остаток глутаминовой кислоты в положении, соответствующем положению 40 в домене Gla белка FIX, приведенном в SEQ ID NO: 83, заменен на лейцин. Кроме того, в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие замену K43I (обозначается {замена Gla из FIX/K43I}), где лизин в положении, соответствующем положению 43 в домене Gla белка FIX, приведенном в SEQ ID NO: 83, заменен на изолейцин. В другом примере модифицированный гетерологичный домен Gla белка FIX в модифицированном полипептиде FVII содержит аминокислотную замену Q44S, обозначаемую {замена Gla из FIX/Q44S}, где глутамин в положении, соответствующем положению 44 в домене Gla белка FIX, приведенном в SEQ ID NO: 83, заменен на серин. В одном примере гетерологичный домен Gla белка FIX содержит аминокислотные замены M19K/E40L/K43I/Q44S.

Модифицированные полипептиды FVII, содержащие гетерологичные домены Gla, такие как модифицированные гетерологичные домены Gla, могут обладать повышенной коагулянтной активностью при более низких дозах по сравнению с молекулой FVII дикого типа, такой как Novoseven®, что обусловлено увеличенным связыванием и/или аффинностью к активированным тромбоцитам. Коагулянтная активность Gla-модифицированных полипептидов FVII может быть увеличена по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с коагулянтной активностью немодифицированного полипептида FVII или полипептида FVII дикого типа in vivo, ex vivo или in vitro.

7. Комбинации и дополнительные модификации.

Любая одна или нескольких модификаций, описанных выше, могут быть объединены с любой другой модификацией (модификациями), описанными выше или описанными в уровне техники. Таким образом, в дополнение к модификациям полипептидов FVII для повышения устойчивости к AT-III, увеличения каталитической активности, повышения устойчивости к ингибированию Zn, изменения гликозилирования, улучшения фармакокинетических свойств, например увеличения периода полураспада, для увеличения связывания и/или аффинности к сывороточному альбумину, увеличения связывания и/или аф-

финности к фосфолипидам или увеличения связывания и/или аффинности к интегрину тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$, модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, также включают модификации, которые приводят более чем к одному из отмеченных выше свойств. Как правило, такие дополнительные модификации включают модификации, которые приводят к повышению коагулянтной активности модифицированного полипептида и/или повышению стабильности полипептида. Соответственно, полученные модифицированные полипептиды FVII проявляют повышенную коагулянтную активность. Дополнительные модификации могут включать, например, любую аминокислотную замену, удаление или вставку, известную в уровне техники, обычно, такая замена увеличивает коагулянтную активность и/или стабильность полипептида FVII. Любые модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более дополнительных модификаций аминокислот, если полученный модифицированный полипептид FVII сохраняет активность FVII дикого типа или активность немодифицированного полипептида FVII. В одном примере в последовательность полипептида FVII могут быть введены такие дополнительные модификации, что ее взаимодействия с другими факторами, молекулами и белками изменяются. Например, аминокислотные остатки, которые участвуют во взаимодействии с ингибитором пути тканевого фактора (TFPI) можно заменить такими остатками, что аффинность и/или связывание модифицированного полипептида FVII с ТФ уменьшится. Другие модификации включают, но не ограничиваются, модификациями аминокислот, которые участвуют во взаимодействии с фактором X, фактором IX, тканевым фактором (ТФ) и фосфолипидами.

В некоторых примерах, модификации, введенные в последовательность полипептида FVII, включают вставки аминокислот, которые образуют связывающие последовательности, такие как, например, связывающую сывороточный альбумин последовательность или связывающую гликопротеин IIb-IIIa последовательность.

В полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, также можно ввести дополнительные модификации, которые изменяют конформацию или фолдинг полипептида. К указанным модификациям относится, например, замена одной или нескольких аминокислот на цистеин, что приводит к образованию новой дисульфидной связи, или к ним относятся модификации, которые стабилизируют конформацию α-спирали, тем самым придавая повышенную активность модифицированному полипептиду FVII. Дополнительные модификации также могут быть введены для изменения посттрансляционных модификаций полипептида FVII. Например, полипептид может быть модифицирован введением дополнительных сайтов гликозилирования, что приводит к модифицированному полипептиду FVII с увеличенным гликозилированием по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Также в полипептид могут быть введены модификации, например, введением аминокислотных остатков, которые могут быть впоследствии связаны с химическим фрагментом, который, например, увеличивает стабильность модифицированного полипептида FVII.

Стабильность полипептидов FVII также может быть изменена модификацией потенциальных протеолитических сайтов, что увеличивает устойчивость модифицированных полипептидов FVII к протеазам.

Кроме того, для увеличения связывания и/или аффинности модифицированных полипептидов FVII к фосфолипидам мембран в эндогенный домен Gla могут быть введены аминокислотные замены, удаления или вставки. Такие модификации могут включать одну аминокислотную замену, удаление и/или вставку или могут включать замену, удаление или вставку нескольких аминокислот. Например, эндогенный домен Gla или его часть можно заменить на гетерологичный домен Gla или часть гетерологичного домена Gla. В других примерах модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут включать делеции или замены в эндогенном домене Gla в положениях, которые в нормальных условиях γ-карбоксилируются (US 20070037746).

В следующих разделах описаны не ограничивающие примеры модификаций, описанных в уровне техники, которые повышают стабильность и/или коагулянтную активность полипептида FVII. Как уже говорилось выше, такие модификации также могут быть дополнительно включены в любой предусмотренный в настоящем документе модифицированный полипептид FVII. Аминокислотные позиции, приведенные ниже, соответствуют последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3. Соответствующие мутации могут быть введены и в другие полипептиды FVII, такие как аллельные, видовые варианты или варианты сплайсинга зрелого полипептида FVII, приведенного в SEQ ID NO: 3.

а. Модификации, повышающие устойчивость к TFPI.

В одном примере в модифицированный полипептид FVII, который содержит модификацию в положении 286 по нумерации зрелого FVII, могут быть введены дополнительные модификации, которые приводят к повышенной устойчивости к TFPI. Такая устойчивость к TFPI может быть достигнута, например, в результате мутирования одного или нескольких остатков в FVII, вовлеченных во взаимодействие и связывание TFPI, что уменьшит или предотвратит такое связывание, что приведет к модифицированным полипептидам FVII, устойчивым к естественному ингибиторному эффекту TFPI по отношению к инициации коагуляции. Например, модификации могут быть введены в аминокислотные остатки, вовлечен-

ные в контакт FVII/TFPI, или в остатки, находящиеся в непосредственной близости от поверхности контакта.

Примеры дополнительных модификаций, которые могут быть введены в предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII для повышения устойчивости к TFPI, включают, но не ограничиваются, модификации, описанные в WO 2004/083361, описанные Neuenschwander и др., (1995) Biochemistry 34: 8701-8707, Chang и др., (1999) Biochemistry 38: 10940-10948, Iakhiaev и др., (2001) Thromb. Haemost. 85:458-463 и описанные в близкой заявке США 12/082662. Не ограничивающие примеры описанных в уровне техники аминокислотных модификаций, которые могут привести к повышенной устойчивости модифицированного полипептида FVII к TFPI, включают одну или более модификаций из Q176, D196K, D196R, D196A, D196Y, D196F, D196W, D196L, D196I, K197Y, K197A, K197E, K197D, K197L, K197M, K197I, K197V, K197F, K197W, K199A, K199D, K199E, G237W, G237T, G237I, G237V, T239A, R290A, R290E, R290D, R290N, R290Q, R290K, R290M, R290V, K341E, K341R, K341Q, K341N, K341M, K341D, G237T238вставкаA, G237T238вставкаS, G237T238вставкаV, G237T238вставкаAS, G237T238вставкаSA, D196K197вставкаK, D196K197вставкаR, D196K197вставкаY, D196K197вставкаW, D196K197вставкаA, D196K197вставкаM, K197I198вставкаE, K197Il98вставкаY, K197I198вставкаA и K197I198вставкаS (где, например, G237T238вставкаAS обозначает модификацию, в которой аланин (A) и серин (S) были вставлены между глицином в положении 237 (G237) и треонином в положении 238).

b. Модификации, увеличивающие собственную активность.

В одном примере в модифицированный полипептид фактора VII, предусмотренный в настоящем документе, могут быть введены дополнительные модификации, которые могут привести к увеличению каталитической активности по отношению к фактору X. Например, могут быть модифицированы аминокислоты, которые участвуют во взаимодействии с кофактором ТФ, в результате чего полученный полипептид FVII обладает повышенной аффинностью к ТФ и проявляет повышенную активность по отношению к FX. Также могут быть введены модификации в активационный карман полипептида FVII, так что собственная активность модифицированного полипептида FVII к FX увеличивается по сравнению с активностью немодифицированного полипептида. Другая стратегия модификации, которая приводит к увеличению активности, предполагает введение модификаций в полипептид FVII, которые изменяют фолдинг и конформацию белка в более активную форму. Например, могут быть введены такие аминокислотные замены, что район с α-спиралью и петлей (соответствующий положениям с 305 до 321 зрелой последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 3) протеазного домена стабилизируется и более плотно укладывается с протеазным доменом, что придает более зимогенподобную форму модифицированному полипептиду FVII. Более активный полипептид также может быть получен модификацией аминокислот, содержащихся в β-тяжах полипептида FVII. Например, могут быть введены аминокислотные замены для введения новых цистеиновых пар, которые могут образовывать новые дисульфидные связи, фиксирующие модифицированный полипептид FVII в более активной форме.

Примеры дополнительных модификаций, которые могут быть введены в предусмотренные в настоящем документе модифицированные полипептиды FVII для увеличения собственной активности модифицированных полипептидов FVII, включают, но не ограничиваются модификациями, описанными Persson и др., (2004) Biochem J. 379:497-503, Maun и др., (2005) Prot Sci 14:1171-1180, Persson и др., (2001) PNAS 98:13583-13588, Persson и др., (2002) Eur. J. Biochem. 269:5950-5955, Soejima и др., (2001) J. Biol. Chem. 276:17229-17235, Soejima и др., (2002) J. Biol. Chem. 277:49027-49035, WO 200183725, WO 2002022776, WO 2002038162, WO 2003027147, WO 200338162, WO 2004029090, WO 2004029091, WO 2004108763 и WO 2004111242. Не ограничивающие примеры описанных в уровне техники аминокислотных модификаций, которые могут привести к увеличению собственной активности модифицированного полипептида FVII, включают одну или более модификаций из S279C/V302C, L280C/N301C, V281C/V302C, S282C/V299C, S314E, L39E, L39Q, L39H, I42R, S43Q, S53N, K62E, K62R, K62D, K62N, K62Q, K62T, L65Q, L65S, F71D, F71Y, F71E, F71Q, F71N, P74S, P74A, A75E, A75D, E77A, E82Q, E82N, T83K, E116D, K157V, K157L, K157I, K157M, K157F, K157W, K157P, K157G, K157S, K157T, K157C, K157Y, K157N, K157E, K157R, K157H, K157D, K157Q, V158L, V158I, V158M, V158F, V158W, V158P, V158G, V158S , V158T, V158C, V158Y, V158N, V158E, V158R, V158K, V158H, V158D, V158Q, A274M, A274L, A274K, A274R, A274D, A274V, A274I, A274F, A274W, A274P, A274G, A274T, A274C, A274Y, A274N , A274E, A274H, A274S, A274Q, F275H, E296V, E296L, E296I, E296M, E296F, E296W, E296P, E296G, E296S, E296T, E296C, E296Y, E296N, E296K, E296R, E296H, E296D, E296Q, M298Q, M298V, M298L, M298I, M298F, M298W, M298P, M298G, M298S, M298T, M298C, M298Y, M298N, M298K, M298R, M298H, M298E, M298D, R304Y, R304F, R304L, R304M, L305V, L305Y, L305I, L305F, L305A, L305M, L305W, L305P, L305G, L305S, L305T, L305C, L305N, L305E, L305K, L305R, L305H, L305D, L305Q, M306D, M306N, D309S, D309T, S314A, S314V, S3141, S314M, S314F, S314W, S314P, S314G, S314L, S314T, S314C, S314Y, S314N, S314E, S314K, S314R, S314H, S314D, S314Q, D334G, D334E, D334A, D334V, D334I, D334M, D334F, D334W, D334P, D334L, D334T, D334C, D334Y, D334N, D334K, D334R, D334H, D334S, D334Q, S336G, S336E, S336A, S336V, S336I, S336M, S336F, S336W, S336P,

S336L, S336T, S336C, S336Y, S336N, S336K, S336R, S336H, S336D, S336Q, K337L, K337V, K337I, K337M, K337F, K337W, K337P, K337G, K337S, K337T, K337C, K337Y, K337N, K337E, K337R, K337H, K337D, K337Q, F374P, F374A, F374V, F374I, F374L, F374M, F374W, F374G, F374S, F374T, F374C, F374Y, F374N, F374E, F374K, F374R, F374H, F374D, F374Q, а также замену положений 300-322, 305-322, 300-312, или 305-312 соответствующими аминокислотами из трипсина, тромбина или FX и замену положений 310-329, 311-322 или 233-329 соответствующими аминокислотами из трипсина.

c. Модификации, повышающие устойчивость к протеазам.

Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, также могут содержать дополнительные модификации, которые приводят к увеличению устойчивости полипептида к протеазам. Например, в белок могут быть введены аминокислотные замены, которые приводят к удалению одного или нескольких потенциальных сайтов протеолитического расщепления. Таким образом, модифицированный полипептид FVII можно сделать более устойчивым к протеазам, увеличивая тем самым стабильность и период полураспада модифицированного полипептида.

Примеры дополнительных модификаций, которые могут быть введены в предусмотренный в настоящем документе модифицированный полипептид FVII для повышения устойчивости к протеазам, включают, но не ограничиваются модификациями, описанными патенте США US5580560 или заявках WO 1988010295 и WO 2002038162. Не ограничивающие примеры описанных в уровне техники модификаций включают модификации, которые могут привести к увеличению устойчивости модифицированного полипептида FVII к ингибиторам и/или протеазам, и включают одну или более модификаций из K32Q, K32E, K32G, K32H, K32T, K32A, K32S, K38T, K38D, K38L, K38G, K38A, K38S, K38N, K38H, I42N, I42S, I42A, I42Q, Y44N, Y44S, Y44A, Y44Q, F278S, F278A, F278N, F278Q, F278G, R290G, R290A, R290S, R290T, R290K, R304G, R304T, R304A, R304S, R304N, R315G, R315A, R315S, R315T, R315Q, Y332S, Y332A, Y332N, Y332Q, Y332G, K341E, K341Q, K341G, K341T, K341A и K341S.

d. Модификации, повышающие аффинность к фосфолипидам.

Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, также могут содержать одну или несколько дополнительных модификаций для увеличения аффинности к фосфолипидам.

Коагулянтная активность FVII может быть повышена за счет увеличения связывания и/или аффинности полипептида к фосфолипидам, таким как экспонированные на поверхности активированных тромбоцитов фосфолипиды. Это может быть достигнуто, например, модификацией эндогенного домена Gla белка FVII.

Модификация может быть осуществлена аминокислотной заменой по одной или нескольким позициям в домене Gla полипептида FVII, в результате чего модифицированный полипептид FVII приобретает повышенную способность связывать фосфатидилсерин и другие отрицательно заряженные фосфолипиды. Примеры дополнительных модификаций для увеличения связывания и/или аффинности к фосфолипидам, которые могут быть введены в модифицированный полипептид FVII, предусмотренный в настоящем документе и содержащий эндогенный домен Gla, включают, но не ограничиваются, модификации, описанные Harvey и др., (2003) J. Biol. Chem. 278:8363-8369, US 20030100506, US 20040220106, US 20060240526, US 6017882, US 6693075, US 6762286, WO 200393465 и WO 2004111242. Примеры таких модификаций включают одну или несколько модификаций, выбранных из вставки тирозина в положение 4 или одной или нескольких из модификаций P10Q, P10E, P10D, P10N, R28F, R28E, K32E, K32D, D33F, D33E, D33K A34E, A34D, A34I, A34L, A34M, A34V, A34F, A34W, A34Y, R36D, R36E, K38E и K38D.

e. Модификации, изменяющие гликозилирование.

Модификация степени, уровня и/или типа гликозилирования белка описаны в уровне техники как средство уменьшения иммуногенности, повышения стабильности белка, средство для уменьшения частоты введения и/или уменьшения неблагоприятных побочных эффектов, таких как воспаление. Как правило, указанные цели достигают путем увеличения уровня гликозилирования. Сайт гликозилирования представляет собой место прикрепления углеводного фрагмента к полипептиду, такое, что при продукции полипептида в эукариотических клетках, способных к гликозилированию, оно гликозилируется.

В FVII присутствуют четыре нативных сайта гликозилирования, два сайта N-гликозилирования, N145 и N322, и два сайта O-гликозилирования, S52 и S60, согласно положениям в последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3. В одном варианте в предусмотренный в настоящем документе модифицированный полипептид FVII могут быть введены дополнительные модификации, приводящие к нарушению гликозилирования этих сайтов. Это может привести к модифицированному полипептиду FVII с повышенной коагулянтной активностью (см., например, WO 2005123916). Не ограничивающие примеры описанных в уровне техники модификаций, которые могут привести к снижению гликозилирования и повышению активности модифицированных полипептидом FVII по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII, включают, но не ограничиваются, S52A, S60A, N145Y, N145G, N145F, N145M, N145S, N145I, N145L, N145T, N145V, N145P, N145K, N145H, N145Q, N145E, N145R, N145W, N145D, N145C, N322Y, N322G, N322F, N322M, N322S, N322I, N322L, N322T, N322V, N322P, N322K, N322H, N322Q, N322E, N322R, N322W и N322C.

В другом варианте в аминокислотную последовательность модифицированного полипептида FVII,

предусмотренного в настоящем документе, могут быть введены дополнительные модификации, такие как введение дополнительных сайтов гликозилирования, что повышает уровень гликозилирования модифицированного полипептида FVII по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Сайт гликозилирования может представлять собой сайт N-гликозилирования или сайт O-гликозилирования. Примеры модификаций, которые могут быть введены в полипептид FVII для создания одного или нескольких новых сайтов гликозилирования включают, но не ограничиваются, модификации, которые описаны в US 6806063 и WO 200393465. Не ограничивающие примеры описанных в уровне техники модификаций, которые могут привести к увеличению гликозилирования модифицированного полипептида FVII по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII, включают, но не ограничиваются, F4S, F4T, P10N, Q21N, W41N, S43N, A51N, G58N, L65N, G59S, G59T, E82S, E82T, N95S, N95T, G97S, G97T, Y101N, D104N, T106N, K109N, G117N, G124N, S126N, T128N, A175S, A175T, G179N, I186S, I186T, V188N, R202S, R202T, I205S, I205T, D212N, E220N, I230N, P231N, P236N, G237N, V253N, E265N, T267N, E270N, R277N, L280N, G291N, P303S, P303ST, L305N, Q312N, G318N, G331N, D334N, K337N, G342N , H348N, R353N, Y357N, I361N, V376N, R379N, M391N, K32N/A34S, K32N/A34T, F31N/D33S, F31N/D33T, I30N/K32S, I30N/K32T, A34N/R36S, A34N/R36T, K38N/F40S , K38N/F40T, T37N/L39S, T37N/L39T, R36N/K38S, R36N/K38T, L39N/W41S, L39N/W41T, F40N/I42S, F40N/I42T, I42N/Y44S, I42N/Y44T, Y44N/D46S, Y44N/D46T, D46N/D48S, D46N/D48T, G47N/Q49S, G47N/Q49T, S52N/P54S, Q66N/Y68S, S119N/L121S, A122N/G124S, T128N/P129A, T130N/E132S, K143N/N145S, K143N/N145T, E142N/R144S, E142N/R144T, L141N/K143S, L141N/K143T, I140N/E142S/, I140N/E142T, R144N/A146S, R144N/A146T, A146N/K148S, A146N/K148T, S147N/P149S/, S147N/P149T, R290N/A292S, R290N/A292T, A292N/A294S, D289N/G291S, D289N/G291T, L288N/R290S, L288N/R290T, L287N/D289S, L287N/D289T, A292N/A294S, A292N/A294T, T293N/L295S, T293N/L295T, R315N/V317S, R315N/V317T, S314N/K316S, S314N/K316T, Q313N/R315S, Q313N/R315T, K316N/G318S, K316N/G318T, V317N/D319S, V317N/D319T, K341N/D343S, K341N/D343T, S339N/K341S, S339N/K341T, D343N/G345S, D343N/G345T, R392N/E394S, R392N/E394T, L390N/R392S, L390N/R392T, K389N/M391S, K389N/M391T, S393N/P395S, S393N/P395T, E394N/R396S, E394N/R396T, E394N/P395A/R396S, P395N/P397S, P395N/P397T, R396N/G398S, R396N/G398T, P397N/V399S, P397N/V399T, G398N/L400S, G398N/L400T, V399N/L401S, V399N/L401T, L400N/R402S, L400N/R402T, L401N/A403S, L401N/A403T, R402N/P404S, R402N/P404T, A403N/F405S, A403N/F405T, P404N/P406S и P404N/P406T.

f. Модификации, содействующие связыванию химических групп.

В предусмотренный в настоящем документе модифицированный полипептид FVII также можно ввести дополнительные модификации, содействующие последующему связыванию химических групп. В полипептид могут быть введены одна или несколько аминокислотных замен или вставок, вследствие чего химические группы могут быть связаны с модифицированным полипептидом FVII через замещенные аминокислоты. Например, в модифицированный полипептид FVII может быть введен цистеин, к которому для повышения стабильности и периода полураспада в сыворотке может быть присоединен фрагмент полиэтиленгликоля (ПЭГ). Другие остатки, по которым может быть осуществлено присоединение химических групп, включают лизин, аспарагиновую кислоту и глутаминовую кислоту. В некоторых вариантах аминокислотные остатки заменяют для уменьшения числа потенциальных сайтов присоединения групп. Например, может быть уменьшено количество лизина. Примеры модификаций, которые могут быть введены в аминокислотную последовательность полипептида FVII и которые могут способствовать последующему связыванию химических групп, включают, но не ограничиваются, модификации, описанные в US 20030096338, US 20060019336, US 6806063, WO 200158935 и WO 2002077218. Не ограничивающие примеры модификаций полипептидов FVII, которые могут способствовать последующему связыванию химических групп, включают, но не ограничиваются, Q250C, R396C, P406C, I42K, Y44K, L288K, D289K, R290K, G291K, A292K, T293K, Q313K, S314K, R315K, V317K, L390K, M391K, R392K, S393K, E394K, P395K, R396K, P397K, G398K, V399K, L400K, L401K, R402K, A403K, P404K, F405K, I30C, K32C, D33C, A34C, T37C, K38C, W41C, Y44C, S45C, D46C, L141C, E142C, K143C, R144C, L288C, D289C, R290C, G291C, A292C, S314C, R315C, K316C, V317C, L390C, M391C, R392C, S393C, E394C, P395C, R396C, P397C, G398C, V399C, L401C, R402C, A403C, P404C, I30D, K32D, A34D, T37D, K38D, W41D, Y44D, S45D, D46C, L141D, E142D, K143D, R144D, L288D, R290D, G291D, A292D, Q313D, S314D, R315D, K316D, V317D, L390D, M391D, R392D, S393D, P395D, R396D, P397D, G398D, V399D, L401D, R402D, A403D, P404D, 130E, K32E, A34E, T37E, K38E, W41E, Y44E, S45E, D46C, L141E, E142E, K143E, R144E, L288E, R290E, G291E, A292E, Q313E, S314E, R315E, K316E, V317E, L390E, M391E, R392E, S393E, P395E, R396E, P397E, G398E, V399E, L401E, R402E, A403E, P404E, K18R, K32R, K38R, K62R, K85R, K109R, K137R, K143R, K148R, K157R, K161R, K197R, K199R, K316R, K337R, K341R, K389R, K18Q, K32Q, K38Q, K62Q, K85Q, K109Q, K137Q, K143Q, K148Q, K157Q, K161Q, K197Q, K199Q, K316Q, K337Q, K341Q, K389Q, K18N, K32N, K38N, K62N, K85N, K109N, K137N, K143N, K148N, K157N, K161N, K197N, K199N, K316N, K337N, K341N, K389N, K18H, K32H, K38H, K62H, K85H, K109H, K137H, K143H, K148H, K157H, K161H, K197H, K199H, K316H, K337H, K341H и K389H.

g. Примеры комбинаций мутаций.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, включающие две

или более модификаций, которые должны влиять на одно или более свойств или активностей немодифицированного полипептида FVII. В некоторых примерах две или более модификации изменяют два или более свойств или активностей полипептида FVII. В полипептиды FVII могут быть введены модификации, изменяющие одно или несколько свойств, выбранных из каталитической активности, устойчивости к AT-III, устойчивости к TFPI, устойчивости к ингибированию Zn^{2+}, собственной активности, амидолитической активности, связывания и/или аффинности к фосфолипидам, гликозилирования, устойчивости к протеазам, периода полураспада и взаимодействия с другими факторами или молекулами, такими как FX, FIX, сывороточный альбумин и интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$. Как правило, две или более модификаций комбинируют таким образом, что полученный модифицированный полипептид FVII проявляет увеличенную коагулянтную активность, увеличенную продолжительность коагулянтной активности и/или увеличенный терапевтический индекс по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII. Модификации могут включать аминокислотные замены, вставки или удаления. Увеличенная коагулянтная активность, увеличенная продолжительность коагулянтной активности и/или увеличенный терапевтический индекс модифицированного полипептида FVII, содержащего две или более модификаций, могут быть увеличены по меньшей мере приблизительно на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 300, 400, 500% или более по сравнению с активностью начального или немодифицированного полипептида FVIIa.

В настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие две или более модификаций, которые вводят в немодифицированный полипептид FVII для изменения двух или более видов активности или свойств. Модифицированные полипептиды FVII могут содержать 2, 3, 4, 5, 6 или более модификаций. Кроме того, каждая модификация может затрагивать один или более аминокислотных остатков. Например, модифицированный полипептид FVII может содержать две модификации, каждая из которых представляет собой замену одной аминокислоты. В другом примере модифицированный полипептид FVII может содержать две модификации, одна из которых представляет собой замену одной аминокислоты, а другая модификация представляет собой удаление более чем одного аминокислотного остатка и последующую вставку более чем одного аминокислотного остатка. Например, модифицированный полипептид FVII, предусмотренный в настоящем документе, может включать замену аминокислоты S222A (остатки соответствуют последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3), нарушающую связывание Zn^{2+}, и модификацию заменой Gla из FIX, которая включает удаление эндогенного домена Gla белка FVII, т.е. удаление аминокислотных остатков с A1 до Y44 (остатки соответствуют последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3) и вставку 45 аминокислотных остатков, которые соответствуют аминокислотным остаткам с Y1 до Y45 домена Gla из FIX, приведенного в SEQ ID NO: 83.

В одном примере модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут включать две или более модификаций, выбранных исключительно из модификаций, приведенных в табл. с 5 до 13. В других примерах модифицированные полипептиды FVII содержат две или более модификаций, где одна или более модификаций выбраны из приведенных в табл. с 5 до 13 модификаций, а одна или нескольких модификаций представляют собой дополнительные модификации, не указанные в табл. с 5 до 13, например, модификации, описанные в уровне техники. В некоторых примерах одна или несколько дополнительных модификаций могут быть выбраны из модификаций, приведенных в разделах D.6.a-e выше. Например, модифицированные полипептиды FVII могут содержать модификации одного или нескольких аминокислотных остатков из D196, K197, K199, G237, T239, R290 или K341 по нумерации зрелого FVII, приведенного в SEQ ID NO:3 (соответствуют D60, K60a, K60c, G97, T99, R147 и K192, соответственно, по нумерации химотрипсина), что может повысить устойчивость к TFPI, и модификации одного или нескольких аминокислотных остатков, которые влияют на собственную активность, например остатков V158 и M298 (V21 и M156, соответственно, по нумерации химотрипсина). Например, модифицированный полипептид FVII может содержать две аминокислотные замены, которые повышают устойчивость к TFPI, такие как K197E и G237V, и одну аминокислотную замену, которая увеличивает собственную активность, такую как M298Q, что приводит к полипептиду FVII с повышенной коагулянтной активностью.

Примеры комбинаций модификаций, предусмотренных в настоящем документе, представляют собой комбинации, которые включают мутацию Q286R (нумерация соответствует последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3; соответствует Q143R по нумерации химотрипсина). Модифицированные полипептиды FVII, содержащие модификацию Q286R, могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более дополнительных модификаций. Эти дополнительные модификации могут быть включены, например, для изменения каталитической активности, устойчивости к AT-III, устойчивости к TFPI, устойчивости к ингибированию Zn^{2+}, собственной активности, амидолитической активности, связывания и/или аффинности к фосфолипидам, гликозилирования, устойчивости к протеазам, периода полураспада и взаимодействия с другими факторами или молекулами, такими как FX, FIX, сывороточный альбумин и интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$. Обычно модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, содержащие две или более модификаций, одна из которых представляет собой ами-

нокислотную замену Q286R, обладают повышенной коагулянтной активностью по сравнению с полипептидом FVII дикого типа.

В некоторых примерах модифицированные полипептиды FVII, содержащие две или более модификаций, из которых одна представляет собой Q286R, обладают повышенной каталитической активностью и коагулянтной активностью по сравнению с полипептидом дикого типа, а также по сравнению с полипептидом FVII, содержащим любую из мутаций по отдельности. Например, в настоящем документе предусмотрены модифицированные полипептиды FVII, содержащие обе аминокислотные замены Q286R и M289Q (Q286R/M298Q по нумерации зрелого полипептида FVII, приведенного в SEQ ID NO: 3; соответствует Q143R/M156Q по нумерации химотрипсина). FVII с комбинацией мутаций Q286R/M298Q проявляет увеличенную каталитическую активность по отношению к его субстрату, фактору X, по сравнению с FVII дикого типа, по сравнению с FVII с одной мутацией Q286R и FVII с одной мутацией M298Q (см. пример 4 ниже). Например, мутант M298Q в присутствии ТФ проявлял по отношению к FX каталитическую активность, которая была в 1,8-2 раза выше, чем активность полипептида дикого типа, каталитическая активность мутанта Q286R была приблизительно в 2,1 раза выше, чем активность полипептида FVII дикого типа, а мутант Q286R/M298Q проявлял по отношению к FX каталитическую активность, которая была приблизительно в 3,6-4,4 раза выше, чем каталитическая активность полипептида дикого типа по отношению к FX (см. табл. 15 ниже). Не ограничивающие примеры комбинаций модификаций приведены в табл. 12.

Примеры комбинаций модификаций включают две и более модификаций, которые предназначены для изменения двух или более видов активности или свойств полипептида FVII, включая, но не ограничиваясь, устойчивость к TFPI, устойчивость к AT-III, собственную активность, амидолитическую активность, каталитическую активность, связывание Zn^{2+}, связывание и/или аффинность к фосфолипидам, гликозилированием, устойчивостью к протеазам, периодом полураспада и взаимодействием с другими факторами или молекулами, такими как FX и FIX. Модифицированные полипептиды FVII, содержащие такие комбинации модификаций, могут проявлять увеличенную коагулянтную активность, увеличенную продолжительность коагулянтной активности и/или увеличенный терапевтический индекс. При описании модификаций, приведенных в табл. 12 ниже, используют ту же номенклатуру и системы нумерации, что и в табл. 5-11 выше. Например, модификация "замена Gla из FIX" включает удаление эндогенного домена Gla из FVII, т.е. удаление аминокислотных остатков с A1 до Y44 (остатки соответствуют последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3), и вставку 45 аминокислотных остатков, которые соответствуют аминокислотным остаткам с Y1 до Y45 домена Gla белка FIX, приведенного в SEQ ID NO: 83, как описано выше. В некоторых примерах модификация "замена Gla из FIX" также подразумевает наличие одной или нескольких аминокислотных замен в домене Gla из FIX по сравнению с доменом Gla из FIX дикого типа, как описано выше. Например, модификация "замена Gla из FIX" также может включает аминокислотную замену M19K (нумерация соответствует последовательности домена Gla из FIX, приведенной в SEQ ID NO: 83). Такая модификация обозначается {замена Gla из FIX/M19K}, т.е. модифицированный полипептид FVII содержит гетерологичный домен Gla из FIX, в котором метионин в положении, соответствующем положению 19 в домене Gla из FIX, приведенном в SEQ ID NO: 83, заменен на лизин. Таким образом, модификации, введенные в гетерологичные части домена Gla из FIX, приведены с указанием аминокислотных положений, соответствующих аминокислотным положениям последовательности зрелого полипептида FIX дикого типа или последовательности домена Gla из FIX дикого типа, приведенного в SEQ ID NO: 83. Модификации, введенные в аминокислотные позиции в полипептиде FVII, приводят с указанием аминокислотных позиций, соответствующих аминокислотным позициям в зрелом полипептиде FVII, приведенном в SEQ ID NO: 3, а также обозначают по нумерации химотрипсина. Например, модифицированные полипептиды FVII, содержащие модификацию Q286R (нумерация соответствует последовательности зрелого полипептида FVII, приведенной в SEQ ID NO: 3) и замену домена Gla из FIX, где домен Gla из FIX содержит аминокислотную замену M19K (нумерация соответствует аминокислотным позициям в домене Gla из FIX, приведенном в SEQ ID NO: 83), обозначают как {замена Gla из FIX/M19K}/Q286R. Аналогично, модификация {замена Gla из FIX/Q44S}/Q286R/M298Q означает, что полипептид FVII содержит модификацию "замена Gla из FIX", где глутамин в положении, соответствующем положению 44 в домене Gla из FIX, приведенном в SEQ ID NO: 83, заменен на серин, а полипептид также содержит аминокислотные замены Q286R и M298Q по нумерации зрелого полипептида FVII, приведенного в SEQ ID NO: 3. В табл. 12 ниже приведены номера по идентификатору последовательностей (SEQ ID NO), в котором приведены примера аминокислотных последовательностей модифицированных полипептидов FVII.

Таблица 12

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
Замена Gla из FIX/Q286R	Замена Gla из FIX/Q143R	131
Q286R/H257A	H117A/Q143R	132
S222A/Q286R	S82A/Q143R	133
Q286R/S222A/H257A	S82A/H117A/Q143R	134
Замена Gla из FIX /S222A/Q286R	S82A/Замена Gla из FIX/Q143R	135
Замена Gla из FIX /H257A/Q286R	H117A/Замена Gla из FIX/Q143R	136
Замена Gla из FIX /S222A/H257A/Q286R	Q143R/S82A/H117A/Замена Gla из FIX	137
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	138
O286R/M298Q/K341Q	Q143R/M156Q/K192Q	139
K199E/Q286R/M298Q	K60cE/Q143R/M156Q	140
Замена Gla из FIX /Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/Q143R/M156Q	141
O286R/Q366V	Q143R/Q217V	142
Q286R/A292N/A294S/Q366V	Q143R/A150N/A152S/Q217V	143
A175S/Q286R/Q366V	A39S/Q143R/Q217V	144
S222A/Q286R/Q366V	S82A/Q143R/O217V	145
H257S/Q286R	H117S/Q143R	146
H257S/Q286R/Q366V	H117S/Q143R/Q217V	147
S222A/H257A/Q286R/Q366V	S82A/H117A/Q143R/Q217V	148
Q286R/H373A	O143R/H224A	149
S222A/H257A/Q286R/M298Q	S82A/H117A/Q143R/M156Q	150
Q286R/K341D	Q143R/K192D	151
Q286R/Q366D	O143R/Q217D	152
Q286R/Q366N	Q143R/Q217N	153
Q286R/M298Q/Q366D	Q143R/M156Q/Q217D	154
Q286R/M298Q/O366N	Q143R/M156Q/Q217N	155
Q286R/H373F	Q143R/H224F	156
Q286R/M298Q/H373F	Q143R/M156Q/H224F	157
Замена Gla из FIX/S222A	Замена Gla из FIX/S82A	245
Замена Gla из FIX/H257A	Замена Gla из FIX/H117A	246
Замена Gla из FIX/S222A/H257A	Замена Gla из FIX/S82A/H117A	247

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
S222A/M298Q	S82A/M156Q	248
H257A/M298Q	H117A/M156Q	249
S222A/H257A/M298Q	S82A/H117A/M156Q	250
S222A/A292N/A294S/Q366V	S82A/A150N/A152S/Q217V	251
A175S/S222A/Q366V	A39S/S82A/Q217V	252
S222A/Q366V	S82A/Q217V	253
H257S/Q366V	H117S/Q217V	254
S222A/H373A	S82A/H224A	255
V158T/L287T/M298K	V21T/L144T/M156K	256
V158D/L287T/M298K	V21D/L144T/M156K	257
S103S111удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V	S[103]S[111]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G97V	258
S103S111удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V	S[103]S[111]удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G97V	259
H115S126удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V	H[115]S[126]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G97V	260
H115S126удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V	H[115]S[126]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G97V	261
H115S126удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V	H[115]S[126]удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G97V	262
T128P134удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V	T[128]P[134]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G97V	263
T128P134удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V	T[128]P[134]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G97V	264
S103S111удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V	S[103]S[111]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G97V	265
T128P134удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V	T[128]P[134]DICLPRWGCLWED/G97V	266
S103S111удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G237V	S[103]S[111]удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G97V	267
H115S126удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G237V	H[115]S[126]удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G97V	268

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
T128P134удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G237V	T[128]P[134]удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G97V	269
M298Q/H373F	M156Q/H224F	270
S119N/L121S/A175S	S[119]N/L[121]S/A39S	271
T128N/P129A/A175S	T[128]N/P[129]A/A39S	272
A122N/G124S/A175S	A[122]N/G[124]S/A39S	273
{Замена Gla из FIX /E40L}/Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX /E[40]L}/Q143R/M156Q	274
{Замена Gla из FIX /K43I}/Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX /K[43]I}/Q143R/M156Q	275
{Замена Gla из FIX /Q44S}/Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX /Q[44]S}/Q143R/M156Q	276
{Замена Gla из FIX /M19K}/Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX /M[19]K}/Q143R/M156Q	277
{Замена Gla из FIX /M19K/E40L/K43I /Q44S}/Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/M[19]K/E[40]L/K[43]I/Q[44]S}/Q143R/M156Q	278
T128N/P129A/Q286R	T[128]N/P[129]A/Q143R	279
T128N/P129A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q	280
T128N/P129A/Q286R/H373F	T[128]N/P[129]A/Q143R/H224F	281
V158D/Q286R/E296V/M298Q	V21D/Q143R/E154V/M156Q	282
T128N/P129A/V158D/E296V/M298Q	T[128]N/P[129]A/V21D/E154V/M156Q	283
T128N/P129A/S222A	T[128]N/P[129]A/S82A	284
Замена Gla из FIX/128N/P129A/S222A/Q286R	Замена Gla из FIX/T[128]N/P[129]A/S82A/Q143R	285
Замена Gla из FIX/T128N/P129A/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q	286
T128N/P129A/S222A/H257A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/S82A/H117A/Q143R/M156Q	287
T128N/P129A/Q286R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/H224F	288
S52A/S60A/V158D/E296V/M298Q	S[52]A/S[60]A/V21D/E154V/M156Q	289

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
S52A/S60A/Q286R	S[52]A/S[60]A/Q143R	290
S52A/S60A/S222A	S[52]A/S[60]A/S82A	291
Замена Gla из FIX/S52A/S60A/S222A /Q286R	Замена Gla из FIX/S[52]A/S[60]A/S82 A/Q143R	292
S52A/S60A/Q286R/M298Q	S[52]A/S[60]A/Q143R/M156Q	293
Замена Gla из FIX/S52A/S60A/Q286R /M298Q	Замена Gla из FIX/S[52]A/S[60]A/Q14 3R/M156Q	294
S52A/S60A/S222A/H257A/Q286R/ M298Q	S[52]A/S[60]A/S82A/H117A/Q143R/ M156Q	298
S52A/S60A/Q286R/H373F	S[52]A/S[60]A/Q143R/H224F	296
S52A/S60A/Q286R/M298Q/H373F	S[52]A/S[60]A/Q143R/M156Q/H224F	297
V158D/T239V/E296V/M298Q	V21D/T99V/E154V/M156Q	298
T239V/Q286R	T99V/Q143R	299
S222A/T239V	S82A/T99V	300
Замена Gla из FIX /S222A/T239V/Q286R	Замена Gla из FIX /S82A/T99V/Q143R	301
T239V/Q286R/M298Q	T99V/Q143R/M156Q	302
S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q	S82A/T99V/H117A/Q143R/M156Q	303
Замена Gla из FIX /T239V/Q286R/ M298Q	Замена Gla из FIX/T99V/Q143R/ M156Q	304
T239V/Q286R/H373F	T99V/Q143R/H224F	305
T239V/Q286R/M298Q/H373F	T99V/Q143R/M156Q/H224F	306
V158D/T239I/E296V/M298Q	V21D/T99I/E154V/M156Q	307
T239I/Q286R	T99I/Q143R	308
S222A/T239I	S82A/T99I	309
Замена Gla из FIX/S222A/T239I/Q28 6R	Замена Gla из FIX/S82A/T99I/Q143R	310
T239I/Q286R/M298Q	T99I/Q143R/M156Q	311
S222A/T239I/H257A/Q286R/M298Q	S82A/T99I/H117A/Q143R/M156Q	312

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
Замена Gla из FIX/T239I/Q286R/M298Q	Замена Gla изFIX/T99I/Q143R/M15 6Q	313
T239I/Q286R/H373F	T99I/Q143R/H224F	314
T239I/Q286R/M298O/H373F	T99I/Q143R/M156Q/H224F	315
Замена Gla из FIX/S222A/Q286R/ H373F	Замена Gla из FIX/S82A/Q143R/ H224F	316
Замена Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/S82A/Q143R/ M156Q	317
Замена Gla изFIX/S222A/Q286R/M29 8Q/H373F	Замена Gla из FIX/S82A/Q143R/M156 Q/H224F	318
V158D/E296V/M298Q/H373F	V21D/E154V/M156Q/H224F	319
V158D/Q286R/E296V/M298Q/H373F	V21D/Q143R/E154V/M156Q/H224F	320
H257A/Q286R/M298Q	H117A/Q143R/M156O	321
H257S/Q286R/M298Q	H117S/Q143R/M156Q	322
Замена Gla из FIX/S222A/H257S/Q286R	Замена Gla из FIX/S82A/H117S/ Q143R	323
S222A/H257S/Q286R/M298Q	S82A/H117S/Q143R/M156Q	324
H257S/Q286R/M298Q/H373F	H117S/Q143R/M156O/H224F	325
S222A/Q286R/M298Q/H373F	S82A/Q143R/M156Q/H224F	326
Замена Gla из FIX/Q366V	Замена Gla из FIX/Q217V	327
S222A/Q286R/M298Q	S82A/Q143R/M156Q	328
T128N/P129A/A175S/Q366V	T[128]N/P[129]A/A39S/Q217V	329
A122N/G124S/A175S/Q366V	A[122]N/G[1241S/A39S/Q217V	330
T128N/P129A/A175S/S222A	T[128]N/P[129]A/A39S/S82A	331
A122N/G124S/A175S/S222A	A[122]N/G[124]S/A39S/S82A	332
T128N/P129A/A175S/Q286R	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R	333
A122N/G124S/A175S/Q286R	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R	334
Замена Gla из FIX /T128N/P129A/A17 5S/S222A/Q286R	Замена Gla из FIX/T[128]N/P[129]A/ A39S/S82A/Q143R	335

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
Замена Gla из FIX/A122N/G124S/ A175S/S222A/Q286R	Замена Gla из FIX/A[122]N/G[124]S/ A39S/S82A/Q143R	336
T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R/ M156Q	337
A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R/ M156Q	338
T128N/P129A/A175S/S222A/H257A /Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/A39S/S82A/H117A/ Q143R/M156Q	339
A122N/G124S/A175S/S222A/H257A /Q286R/M298Q	A[122]N/G[124]S/A39S/S82A/H117A/ Q143R/M156Q	340
T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q/ H373F	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R/M156 Q/H224F	341
A122N/G124S/A175S/Q286R/M298 Q/H373F	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R/ M156Q/H224F	342
T128N/P129A/M298Q	T[128]N/P[129]A/M156Q	354
{Замена Gla из FIX /K43I} /T128N/P129A/Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX /K[43]I}/ T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q	355
T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/ Q217N	356
{Замена Gla из FIX /K43I}/Q286R/M298Q/Q366N	{Замена Gla из FIX /K[43]I}/Q143R/M156QQ217N	357
{Замена Gla из FIX /K43I}/ T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N	{Замена Gla из FIX /K[43]I}/T[128]N/ P[129]A/Q143R/M156QQ217N	358
T128N/P129A/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/M156Q/H224F	359
V158D/Q286R/E296V/M298Q	V21D/Q143R/E154V/M156Q	360
M298Q/Q366N/H373F	M156Q/Q217N/H224F	361
T239V/M298Q/H373F	T99V/M156Q/H224F	362
T239I/M298Q/H373F	T99I/M156Q/H224F	363
T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N/ H373F	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/ Q217N/H224F	364
T239V/Q286R/M298Q/Q366N	T99V/Q143R/M156Q/Q217N	365
T239I/Q286R/M298Q/Q366N	T99I/Q143R/M156Q/Q217N	366

Модификации по нумерации зрелого FVII	Модификации по нумерации химотрипсина	SEQ ID NO
T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/T99V/Q143R/M156 Q	367
T128N/P129A/S222A/T239V/H257A /Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/S82/VT99V/H117A/ Q143R/M156Q	368
T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q/ H373F	T[128]N/P[129]A/T99V/Q143R/M156 Q/H224F	369
T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/T99I/Q143R/M156Q	370
T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q /H373F	T[128]N/P[129]A/T99I/Q143R/M156Q /H224F	371

E. Получение полипептидов FVII.

Полипептиды FVII, в том числе модифицированные полипептиды FVII или их домены или домены других витамин K-зависимых полипептидов, могут быть получены хорошо известными в уровне техники способами очистки белков и экспрессии рекомбинантных белков. Могут быть использованы любые известные специалистам в данной области способы выявления нуклеиновых кислот, которые кодируют желаемые гены. Для получения полноразмерного (т.е. охватывающего весь кодирующий район) клона кДНК или геномной ДНК, кодирующего полипептид FVII или другой витамин K-зависимый полипептид, например, из клеток или ткани, например ткани печени, может быть использован любой способ, доступный в уровне техники. Модифицированные полипептиды FVII могут быть сконструированы, как описано в настоящем документе, например, с помощью сайт-направленного мутагенеза.

FVII можно клонировать или выделить с помощью любых доступных известных в уровне техники способов клонирования и выделения молекул нуклеиновых кислот. Такие способы включают ПЦР-амплификацию нуклеиновых кислот и скрининг библиотек, в том числе скрининг гибридизацией нуклеиновых кислот, скрининг антителами и скрининг по активности.

Для выделения молекул нуклеиновых кислот, кодирующих полипептид FVII, могут быть использованы различные способы амплификации нуклеиновых кислот, включая, например, полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Содержащий нуклеиновые кислоты материал может быть использован в качестве исходного материала, из которого могут быть выделены кодирующие FVII молекулы нуклеиновой кислоты. Например, в методах амплификации могут быть использованы препараты ДНК и РНК, клеточные экстракты, экстракты ткани (например, печени), образцы жидкости (например, образцы крови, сыворот-

ки, слюны), образцы, взятые у здоровых и/или больных субъектов. Библиотеки нуклеиновых кислот также могут быть использованы как источник исходного материала. Для амплификации кодирующих FVII молекул могут быть разработаны праймеры. Например, праймеры могут быть сконструированы на основе экспрессируемых последовательностей, из которых образуется FVII. Праймеры могут быть сконструированы с помощью обратной трансляции аминокислотной последовательности FVII. Молекулы нуклеиновых кислот, полученные в результате амплификации, могут быть секвенированы, что подтвердит кодирование указанными молекулами полипептида FVII.

С кодирующей FVII молекулой нуклеиновой кислоты могут быть соединены дополнительные нуклеотидные последовательности, в том числе линкерные последовательности, содержащие сайты рестрикции для клонирования синтетического гена в вектор, например вектор экспрессии или вектор, предназначенный для амплификации кодирующей коровый белок последовательности ДНК. Кроме того, с кодирующей FVII молекулой нуклеиновой кислоты могут быть функционально связаны дополнительные нуклеотидные последовательности, представляющие собой функциональные элементы ДНК. Примеры таких последовательностей включают, но не ограничиваются промоторными последовательностями, предназначенными для обеспечения внутриклеточной экспрессии белка, и сигнальными последовательностями, предназначенными для обеспечения секреции белка. Дополнительные нуклеотидные последовательности, такие как последовательности, представляющие собой районы связывания белков, также могут быть связаны с кодирующей FVII молекулой нуклеиновой кислоты. Такие районы, включают, но не ограничиваются, последовательности, содействующие поглощению FVII конкретными клетками-мишенями или, напротив, повышающие фармакокинетику синтетического гена.

Выявленные и выделенные нуклеиновые кислоты могут быть вставлены в соответствующий вектор клонирования. Может быть использовано большое количество известных в уровне техники систем вектор-хозяин. Возможные векторы при условии совместимости векторной системы с используемой клеткой-хозяином включают, но не ограничиваются, плазмиды или модифицированные вирусы. Такие векторы включают, но не ограничиваются, бактериофаги, такие как производные бактериофага лямбда, или плазмиды, такие как pBR322, pUC плазмиды или производные вектора Bluescript (Stratagene, La Jolla, Калифорния). Вставки в вектор клонирования могут быть введены, например, путем лигирования фрагмента ДНК в вектор клонирования, который имеет комплементарные липкие концы. Вставка может быть введена с использованием векторов клонирования TOPO (Invitrogen, Carlsbad, Калифорния). Если для фрагментации ДНК были использованы комплементарные сайты рестрикции, которых нет в векторе клонирования, концы молекулы ДНК могут быть ферментативно модифицированы. Кроме того, любой желаемый сайт может быть получен путем лигирования нуклеотидных последовательностей (линкеров) на концах ДНК, лигированые линкеры могут содержать специфичные химически синтезированные олигонуклеотиды, кодирующие последовательности, распознаваемые эндонуклеазами рестрикции. В альтернативном методе расщепленный вектор и ген белка FVII могут быть модифицированы присоединением гомополимерного концевого фрагмента. Рекомбинантные молекулы могут быть введены в клетку-хозяина, например, с помощью трансформации, трансфекции, инфекции, электропорации и сонопорации, в результате чего образуется множество копий последовательности гена. В конкретных вариантах трансформация клетки-хозяина рекомбинантными молекулами ДНК, которые включают выделенный ген белка FVII, кДНК или синтезированную последовательность ДНК, позволяет получить множество копий гена. Таким образом, ген может быть получен в больших количествах с помощью выращивания трансформантов, выделения рекомбинантных молекул ДНК из трансформантов и, при необходимости, получения вставленного гена из выделенной рекомбинантной ДНК.

1. Векторы и клетки.

Для рекомбинантной экспрессии одного или нескольких белков FVII, нуклеиновые кислоты, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую белок FVII, или ее часть, могут быть вставлены в соответствующий вектор экспрессии, т.е. вектор, который содержит необходимые элементы для транскрипции и трансляции кодирующей последовательности вставленного белка. Примером такого вектора может быть любой вектор экспрессии млекопитающих, такой как, например, pCMV. Необходимые сигналы транскрипции и трансляции также могут содержаться в нативном промоторе гена FVII и/или его фланкирующих районах.

Кроме того, в настоящем документе предусмотрены векторы, которые содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие FVII или модифицированный FVII. Также предусмотрены клетки, содержащие вектор. Клетки включают эукариотические и прокариотические клетки, а векторы представляют собой любые подходящие для использования в настоящем документе векторы.

Предусмотрены прокариотические и эукариотические клетки, в том числе клетки эндотелия, содержащие векторы. Такие клетки включают бактериальные клетки, клетки дрожжей, клетки грибов, археи, растительные клетки, клетки насекомых и клетки животных. Для получения полипептида FVII или модифицированных полипептидов FVII клетки выращивают в соответствующих условиях, при которых закодированные белки FVII экспрессируются в клетках, после чего извлекают экспрессированный белок FVII. Для целей настоящего изобретения FVII может быть секретирован в среду.

В одном варианте предусмотрен вектор, содержащий последовательность нуклеотидов, кодирую-

щую полипептид, обладающий активностью FVII и включающий полипептид FVII или его часть, или несколько копий указанной последовательности. Могут быть выбраны векторы для экспрессии полипептида FVII или модифицированных полипептидов FVII в клетке или для секреции экспрессированного белка FVII. Нуклеиновая кислота, с которой экспрессируют FVII, может быть связана с нуклеиновой кислотой, кодирующей сигнал секреции, такой как сигнальная последовательность фактора α-спаривания Saccharomyces cerevisiae или его часть, или нативная сигнальная последовательность.

Для экспрессии кодирующей последовательности белка могут быть использованы различные системы хозяин-вектор. Они включают, но не ограничиваются системами клеток млекопитающих, инфицированных вирусом (например, вирусом осповакцины, аденовирусом и другими вирусами); системами клеток насекомых, инфицированных вирусом (например, бакуловирусом); микроорганизмами, такими как дрожжи, содержащие дрожжевые векторы, или бактерии, трансформированные бактериофагом, ДНК, плазмидной ДНК или космидной ДНК. Экспрессионные элементы векторов варьируют по силе и специфичности. В зависимости от используемой системы хозяин-вектор может быть использован любой подходящий транскрипционный и трансляционный элемент.

Для конструирования векторов экспрессии, содержащих химерный ген, включающий соответствующие сигналы контроля транскрипции/трансляции и кодирующие белок последовательности, могут быть использованы любые методы вставки фрагментов ДНК в вектор, известные специалистам в данной области. Эти методы могут включать рекомбинацию и синтез ДНК in vitro или рекомбинацию in vivo (генетическую рекомбинацию). Экспрессию последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид FVII, модифицированный полипептид FVII или его домен, производное, фрагмент или гомолог, можно регулировать с использованием второй последовательности нуклеиновой кислоты, что приводит к экспрессии генов или их фрагментов в трансформированном молекулой (молекулами) рекомбинантной ДНК хозяине. Например, экспрессией белков можно управлять с помощью любого промотора/энхансера, известного в уровне техники. В одном варианте промотор не является нативным для генов белка FVII. Промоторы, которые могут быть использованы, включают, но не ограничиваются ранним промотором SV40 (Bernoist и Chambon, Nature 290: 304-310 (1981)), промотором, содержащимся в 3'-длинном концевом повторе вируса саркомы Payca (Yamamoto и др., Cell 22:781-791 (1980)), промотором тимидинкиназы герпеса (Wagner и др., Proc. Natl. Acad. Sci USA 75:1441-1445 (1981)), регуляторными последовательностями гена металлотионеина (Brвставкater и др., Nature 296:39-42 (1982)); промоторами прокариотических векторов экспрессии, включающими промотор β-лактамазы (Jay и др., (1981). Proc. Natl. Acad. Sci USA 75: 5543) или TAC промотор (DeBoer и др., Proc. Natl. Acad. Sci USA 80:21-25 (1983)), см. также "Useful Protevставка from Recombinant Bacteria" в журнале Scientific American 242:79-94 (1980); векторы экспрессии растений включают промотор нопалин-синтетазы (Herrar-Estrella и др., Nature 305:209-213 (1984)), промотор 35S РНК вируса мозаики цветной капусты (Garder и др., Nucleic Acids Res. 9:2871 (1981)) и промотор фермента фотосинтеза рибулозобисфосфаткарбоксилазы (Herrera-Estrella и др., Nature 310: 115-120 (1984)); промоторные элементы дрожжей и других грибов включают промотор Gal4, промотор алкогольдегидрогеназы, промотор фосфоглицеролкиназы, промотор щелочной фосфатазы; районы контроля транскрипции животных, которые проявляют тканеспецифичность и которые были использованы в трансгенных животных, включают контролирующий район гена эластазы I, который активен в ацинарных клетках поджелудочной железы (Swift и др., Cell 35:639-646 (1984); Ornitz и др., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol 50:399-409 (1986); MacDonald, Hepatology 7:425-515 (1987)); контролирующий район гена инсулина, активный в β-клетках поджелудочной железы (Hanahan и др., Nature 315: 115-122 (1985)), контролирующий район генов иммуноглобулинов, который активен в лимфоидных клетках (Grosschedl и др., Cell 35:647-658 (1984); Adams и др., Nature 318:533-538 (1985);. Alexander и др., Mol. Cell Biol. 7:1436-1444 (1987)), контролирующий район вируса опухоли молочной железы мыши, активный в яичках, молочной железе, лимфоидных и тучных клетках (Leder и др., Cell 45:485-495 (1986)), контролирующий район гена альбумина (Pinckert и др., Genes and Devel 7:268-276 (1987)), активный в печени, контролирующий район гена α-фетобелка, активный в печени (Krumlauf и др., Mol. Cell Biol. 5: 1639-1648 (1985); Hammer и др., Science 235: 53-58 1987)), контролирующий район гена α-1-антитрипсина, активный в печени (Kelsey и др., Genes and Devel 7: 161-171 (1987)), контролирующий район гена β-глобина, активный в миелоидных клетках (Mogram и др., Nature 375:338-340 (1985); Kollias и др., Cell 46:89-94 (1986)), контролирующий район гена основного белка миелина, активный в олигодендроцитах мозга (Readhead и др., Cell 45:703-712 (1987)), контролирующий район гена легкой цепи-2 миозина, активный в скелетных мышцах (Shani, Nature 374:283-286 (1985)) и контролирующий район гена гонадотропного рилизинг-гормона, активный в гонадотропоцитах гипоталамуса (Mason и др., Science 234: 1372-1378 (1986)).

В конкретном варианте используют вектор, который содержит промотор, функционально связанный с нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептид FVII или модифицированный полипептид FVII, или его домен, фрагмент, производное или гомолог, вектор также содержит одну или несколько точек начала репликации и, по желанию, один или более селективных маркеров (например, ген устойчивости к антибиотику). Векторы и системы экспрессии полипептидов FVII включают известные векторы Pichia

(доступные, например, от Invitrogen, San Diego, Калифорния), в частности векторы, предназначенные для секреции закодированных белков. Примеры плазмидных векторов для экспрессии в клетках млекопитающих включают, например, pCMV. Примеры плазмидных векторов для трансформации клеток E.coli включают, например, векторы экспрессия pQE (доступные от Qiagen, Valencia, Калифорния, см. также литературу, опубликованную Qiagen для описания системы). pQE вектор включает промотор фага T5 (распознается РНК полимеразой E.coli), двойной участок репрессии в Lac-операторе для жестко регулируемой высокой экспрессии рекомбинантных белков в E.coli, синтетический сайт связывания рибосом (RBS II) для эффективной трансляции, последовательность, кодирующую 6×His метку, t_0 и T1 терминаторы транскрипции, точку начала репликации CoIE1 и ген β-лактамазы для устойчивости к ампициллину. pQE вектор позволяет присоединять 6×His метку на N-конце или C-конце рекомбинантного белка. Такие плазмиды включают pQE 32, pQE 30 и 31 pQE, которые включают сайты множественного клонирования для всех трех рамок считывания и обеспечивают экспрессию белков с N-концевой 6×His меткой. Другие примеры плазмидных векторов для трансформации клеток E.coli включают, например, векторы экспрессии pET (см., патент США 4952496; вектор доступен Novagen, Madison, Висконсин, см., также опубликованную Novagen литературу с описанием системы). Такие плазмиды включают pET11a, которая содержит промотор T7lac, T7 терминатор, индуцируемый lac-оператор E.coli, и ген lac-репрессора; pET12a-c содержит промотор T7, терминатор T7 и сигнал секреции ompT из E.coli; pET15b и pET19b (Novagen, Madison, Висконсин) содержат лидерную последовательность His-Tag™ для очистки на His колонке и сайт расщепления тромбином, который позволяет осуществить расщепление после очистки на колонке, T7-lac промоторный район и T7 терминатор.

2. Системы экспрессии.

Полипептиды FVII (модифицированные и немодифицированные) могут быть получены любыми известными в уровне техники способами получения белка, включая in vitro и in vivo способы, такие как, например, введение молекул нуклеиновых кислот, кодирующих FVII, в клетку-хозяина, животное-хозяина, и экспрессию молекул нуклеиновых кислот, кодирующих FVII, in vitro. FVII и модифицированные полипептиды FVII могут быть экспрессированы в любом организме, подходящем для получения необходимого количества полипептида FVII и необходимой формы FVII, требуемых для введения и лечения. Хозяева в системах экспрессии включают прокариотические и эукариотические организмы, такие как E. coli, дрожжи, растения, клетки насекомых, клетки млекопитающих, в том числе клеточные линии человека, и трансгенные животные. Хозяева систем экспрессии могут отличаться уровнями экспрессии белка, а также типом пост-трансляционных модификаций, которые присутствуют на экспрессированных белках. Выбор хозяина системы экспрессии может быть сделан на основе перечисленных и других факторов, таких как нормативные ограничения и соображения безопасности, издержки производства и необходимость очистки, и способы очистки.

Экспрессия в эукариотических хозяевах может включать экспрессию в дрожжах, таких как Saccharomyces cerevisiae и Pichia pastoria, клетках насекомых, таких как клетки дрозофилы и клетки чешуекрылых, экспрессию в растениях и растительных клетках, таких как табак, кукуруза, рис, водоросли и ряска. Эукариотические клетки для экспрессии также включают линии клеток млекопитающих, такие как клетки яичников китайского хомячка (CHO) или клетки почки детеныша хомяка (BHK).

Эукариотические хозяева экспрессии также включают трансгенных животных, например, включая получение трансгена в сыворотке крови, молоке и яйцах. Трансгенные животные для получения полипептидов FVII дикого типа известны в уровне техники (патентные публикации США №№ 20020166130 и 20040133930) и могут быть адаптированы для получения предусмотренных модифицированных полипептидов FVII.

Для экспрессии FVII доступно и известно специалистам в данной области множество векторов экспрессии. Выбор вектора экспрессии зависит от выбора хозяина системы экспрессии. Такой выбор находится в сфере компетенции специалиста. В общем, вектор экспрессии может включать транскрипционный промотор и, необязательно, энхансер, сигналы трансляции и сигналы терминации транскрипции и трансляции. Векторы экспрессии, которые используются для стабильной трансформации, обычно обладают селективным маркером, который позволяет отобрать и поддерживать трансформированные клетки. В некоторых случаях ориджин репликации может быть использован для амплификации числа копий вектора в клетках. Полипептиды FVII или модифицированные полипептиды FVII также могут быть использованы или экспрессированы как гибридные белки. Например, гибридный белок может быть получен добавлением дополнительного функционального полипептида. Примеры гибридных белков включают гибридные белки с сигнальной последовательностью, такой как метка для локализации, например, His6 метка или myc метка, или такой как метка для очистки, например, слитая последовательность GST, примеры также включают белки, слитые с последовательностью для направления секреции белков и/или ассоциации с мембраной, но не ограничиваются указанными примерами.

В одном из вариантов полипептид FVII или модифицированные полипептиды FVII могут быть экспрессированы в активной форме, где активация достигается за счет самоактивации полипептида после секреции. В другом варианте протеазы экспрессируются в неактивной, зимогенной форме. Способы по-

лучения полипептидов FVII могут включать коэкспрессию одного или нескольких дополнительных гетерологичных полипептидов, которые могут помочь в получении полипептидов FVII. Например, такие полипептиды могут способствовать посттрансляционной модификации полипептидов FVII. Примеры полипептидов включают, но не ограничиваются, пептидазы, которые помогают отщеплять последовательности от предшественника FVII, такие как пропептидная последовательность, и ферменты, которые участвуют в модификации полипептида FVII, например, путем гликозилирования, гидроксилирования, карбоксилирования или фосфорилирования. Пример пептидазы, которая может быть коэкспрессирована с FVII, представляет собой PACE/фурин (или PACE-SOL), которая способствует отщеплению пропептидной последовательности FVII. Пример белка, который способствует карбоксилированию полипептида FVII, представляет собой варфарин-чувствительный фермент витамин-K-2,3-эпоксидредуктазу (VKOR), который восстанавливает витамин K для использования в качестве кофактора в витамин K-зависимом γ-карбоксилировании (Wajih и др., J. Biol. Chem. 280 (36) 31603-31607). Субъединица этого фермента, VKORC1, может быть коэкспрессирована с модифицированным полипептидом FVII для усиления γ-карбоксилирования. Один или несколько дополнительных полипептидов могут быть экспрессированы с того же вектора экспрессии, что и полипептид FVII, или с другого вектора.

a. Экспрессия в прокариотах.

Прокариоты, особенно E. coli, представляют собой системы для получения большого количества FVII (см., например, Platis и др., (2003) Protein Exp. Purif. 31(2): 222-30; и Khalilzadeh и др., (2004) J. Ind Microbiol Biotechnol 31 (2): 63-69). Трансформация E. coli представляет собой простой и быстрый метод, хорошо известный специалистам в данной области. Векторы экспрессии E. coli могут содержать индуцибельный промотор, полезный для стимулирования высоких уровней экспрессии белка и для экспрессии белков, которые проявляют токсичность для клеток-хозяев. Примеры индуцибельных промоторов включают lac-промотор, trp-промотор, гибридный tac-промотор, T7 и SP6 РНК промоторы и термочувствительный λP_L промотор.

FVII может быть экспрессирован в цитоплазматической среде E. coli. Цитоплазма представляет собой восстановительную среду, и для некоторых молекул это может привести к образованию нерастворимых телец включения. Для ресолюбилизации белков могут быть использованы восстанавливающие агенты, такие как дитиотреитол и β-меркаптоэтанол и денатурирующие агенты (например, гуанидин-HCl и мочевина). Альтернативный подход состоит в экспрессии FVII в периплазматическом пространстве бактерий, которое предоставляет окислительную среду, шаперонинподобные белки и дисульфидизомеразы, что приводит к образованию растворимого белка. Как правило, с экспрессируемым белком сливают лидерную последовательность, которая направляет белок в периплазму. Затем лидерная последовательность удаляется сигнальной пептидазой внутри периплазмы. Примеры лидерных последовательностей, направляющих белки в периплазму, включают лидерную последовательность pelB гена пектатлиазы и лидерную последовательность гена щелочной фосфатазы. В некоторых случаях периплазматическая экспрессия приводит к утечке экспрессированного белка в культуральную среду. Секреция белков позволяет быстро и просто очистить белки от культурального супернатанта. Не секретируемые белки могут быть получены из периплазмы с помощью осмотического лизиса. Как и при цитоплазматической экспрессии, в некоторых случаях белки могут стать нерастворимыми и для облегчения растворения и рефолдинга белков могут быть использованы денатурирующие агенты и восстановители. Температуры индукции и культивирования также могут влиять на уровень экспрессии и растворимость белков. Как правило, используются температуры между 25 и 37°C. Для увеличения растворимости экспрессированного белка также могут быть использованы мутации. Как правило, бактерии производят агликозилированные белки. Таким образом, если для функционирования белки требуют гликозилирования, то гликозилирование может быть осуществлено in vitro после очистки из клетки-хозяина.

b. Дрожжи.

Дрожжи, такие как Saccharomyces cerevisiae, Schizosaccharomyces pombe, Yarrowia lipolytica, Kluyveromyces lactis и Pichia pastoris, являются полезными хозяевами систем экспрессии для FVII (см., например, Skoko и др., (2003) Biotechnol. Appl. Biochem. 38 (Pt3):257-65). Дрожжи могут быть трансформированы эписомными репликативными векторами или путем стабильной интеграции в хромосомы гомологичной рекомбинацией. Как правило, для регулирования экспрессии генов используются индуцируемые промоторы. Примеры таких промоторов включают промоторы GAL1, GAL7, GAL5 и металлотионеиновые промоторы, такие как CUP1. Для отбора и поддержания трансформированной ДНК векторы экспрессии часто включают селективные маркеры, такие как LEU2, TRP1, HIS3 и URA3. Экспрессируемые в дрожжах белки часто являются растворимыми, а коэкспрессия с шаперонинами, такими как Bip и протеиндисульфидизомераза, может повысить уровень экспрессии и растворимость белка. Кроме того, экспрессируемые в дрожжах белки могут быть направлены для секреции с использованием слитого сигнального пептида секреции, такого как сигнал секреции фактора альфа-типа спаривания дрожжей из Saccharomyces cerevisiae, и слитого сигнального пептида белков поверхности клетки дрожжей, таких как адгезивный рецептор спаривания Aga2p или глюкоамилаза Arxula adeninivorans. Для удаления слитой последовательности из полипептидов после секреции может быть введен сайт расщепления протеазой

(например, протеазой Kex-2). Дрожжи также способны к гликозилированию мотива Asn-X-Ser/Thr.

c. Насекомые и клетки насекомых.

Насекомые и клетки насекомых, в частности, при использовании системы бакуловирусной экспрессии полезны для экспрессии полипептидов, таких как FVII или его модифицированные формы (см., например, Muneta и др., (2003) J. Vet. Med. Sci. 65 (2):219-23). Клетки насекомых и личинки насекомых экспрессируют высокие уровни белка, в том числе экспрессируют в гемолимфе, и способны осуществлять большинство посттрансляционных модификаций высших эукариот. Бакуловирусы имеют ограниченный диапазон хозяев, что повышает безопасность и снижает нормативные ограничения, присущие системам эукариотической экспрессии. Как правило, в векторах экспрессии для высокого уровня экспрессии белка используют промотор полиэдрина бакуловируса. Обычно используемые бакуловирусные системы включают такие бакуловирусы, как вирус ядерного полиэдроза Autographa californica (AcNPV) и вирус ядерного полиэдроза Bombyx mori (BmNPV), и линии клеток насекомых, такие как Sf9, полученные из Spodoptera frugiperda, Pseudaletia unipuncta (A7S) и Danaus plexippus (DpN1). Для достижения высокого уровня экспрессии нуклеотидную последовательность молекулы, которая будет экспрессирована, сливают непосредственно после инициаторного кодона полиэдрина вируса.

Сигналы секреции млекопитающих точно процессируются в клетках насекомых и могут быть использованы для секреции экспрессированного белка в культуральную среду. Кроме того, клеточные линии Pseudaletia unipuncta (A7S) и Danaus plexippus (DpNl) производят белки, гликозилирование которых похоже на гликозилирование в клеточных системах млекопитающих. Альтернативной системой экспрессии в клетках насекомых является использование стабильно трансформированных клеток. Для экспрессии могут быть использованы такие клеточные линии, как Schnieder 2 (S2) и Kc клетки (Drosophila melanogaster) и C7 клетки (Aedes albopictus). Для достижения высокого уровня экспрессии в присутствии тяжелых металлов может быть использован промотор металлотионеина дрозофилы с индукцией кадмием и медью. Векторы экспрессии, как правило, поддерживают за счет использования селективных маркеров, таких как неомицин и гигромицин.

d. Клетки млекопитающих.

Для экспрессии полипептидов FVII могут быть использованы системы экспрессии млекопитающих. Экспрессионные конструкции могут быть введены в клетки млекопитающих посредством вирусной инфекции, например, с помощью аденовируса, или путем прямого переноса ДНК, например, с помощью липосом, фосфата кальция, ДЭАЭ-декстрана и физических методов, таких как электропорация и микроинъекция. Векторы экспрессии для клеток млекопитающих обычно включают сайт кэпирования мРНК, ТАТА-бокс, последовательность инициации трансляции (консенсусную последовательность Козака) и элементы полиаденилирования. Такие векторы для достижения высокого уровня экспрессии часто включают промоторы и энхансеры транскрипции, например промотор-энхансер SV40, промотор цитомегаловируса человека (CMV) и длинный концевой повтор вируса саркомы Рауса (RSV). Указанные промоторы-энхансеры действуют во многих типах клеток. Также для экспрессии могут быть использованы тканеспецифичные и специфичные к определенным типам клеток промоторные и энхансерные районы. Примеры промоторных/энхансерных районов включают, но не ограничиваются, районы из таких генов, как ген эластазы I, ген инсулина, гены иммуноглобулинов, промоторный/энхансерный район вируса опухоли молочной железы мыши, геном альбумина, геном α-фетобелка, α-1-антитрипсина, β-глобина, основного белка миелина, легкой цепи-2 миозина и гонадотропного рилизинг-гормона. Для отбора и поддержания клеток с экспрессионными конструкциями могут быть использованы селективные маркеры. Примеры селективных маркеров включают, но не ограничиваются, гены гигромицинфосфотрансферазы, аденозиндезаминазы, ксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы, аминогликозидфосфотрансферазы, дигидрофолатредуктазы и тимидинкиназы. Гибридные белки с сигнальными молекулами клеточной поверхности, такими как TCR-ζ и $Fc_{\varepsilon}RI$-γ, могут непосредственно экспрессироваться в активном состоянии на поверхность клеток.

Для экспрессии в млекопитающих доступны многие клеточные линии, включая клетки мыши, крысы, человека, обезьяны, курицы и хомяка. Примеры линий клеток включают, но не ограничиваются ВНК (т.е. клетками ВНК-21), 293-F, CHO, Balb/3T3, HeLa, MT2, мышиными NSO (не секретирующие) и другими клеточными линиями миеломы, гибридомными и гетерогибридомными клеточными линиями, лимфоцитами, фибробластами, SP2/0, COS, NIH3T3, HEK293, 293S, 293T, 2B8 и HKB клетками. Также доступны адаптированные к бессывороточной среде клеточные линии, что облегчает очистку секретируемых белков из культуральной среды. Одним из таких примеров является бессывороточная линия клеток EBNA-I (Pham и др., (2003) Biotechnol Bioeng. 84:332-42).

Экспрессия рекомбинантных полипептидов FVII, имеющих одинаковую структуру и посттрансляционные модификации с FVII плазмы, известна в уровне техники (см., например, Jurlander и др., (2003) Semin Throm Hemost). Также известны способы оптимизации экспрессии витамин K-зависимых белков. Например, добавление витамина K в культуральную среду или коэкспрессия витамин K-зависимой γ-карбоксилазы (Wajih и др., J. Biol. Chem. 280 (36) 31603-31607) могут способствовать посттрансляционным модификациям витамин K-зависимых белков, таких как полипептиды FVII.

е. Растения.

Трансгенные клетки растений и растения могут быть использованы для экспрессии FVII. Экспрессионные конструкции, как правило, переносят в растения с использованием прямого переноса ДНК, такого как бомбардировка микрочастицами и PEG-опосредованный перенос в протопласты, или с использованием агробактериальной трансформации. Векторы экспрессии могут включать промоторные и энхансерные последовательности, элементы терминации транскрипции и элементы контроля трансляции. Векторы экспрессии и методы трансформации, как правило, отличаются для двудольных хозяев, таких как арабидопсис и табак, и однодольных хозяев, таких как кукуруза и рис. Примеры промоторов растений, используемых для экспрессии, включают промотор вируса мозаики цветной капусты, промотор нопалинсинтазы, промотор рибулозобисфосфаткарбоксилазы и промотор убиквитина и UBQ3. Для облегчения отбора и поддержания трансформированных клеток часто используют селективные маркеры, такие как гигромицин, фосфоманнозоизомераза и неомицинфосфотрансфераза. Трансформированные клетки растений можно поддерживать в культуре в виде клеток, агрегатов (каллусной ткани) или регенерировать в целые растения. Поскольку растения обладают другими формами гликозилирования, чем клетки млекопитающих, это может повлиять на выбор этих хозяев для производства FVII. Трансгенные клетки растений также могут включать генетически модифицированные водоросли, предназначенные для производства белков (см., например, Mayfield и др., (2003) PNAS 100:438-442).

2. Способы очистки.

Способы очистки полипептидов FVII из клетки-хозяина зависят от выбранной клетки-хозяина и системы экспрессии. В случае секреции белки, в общем, являются очищенными из культуральной среды после удаления клеток. В случае внутриклеточной экспрессии клетки могут быть лизированы, и белки очищают из экстракта. Если для экспрессии используют трансгенные организмы, такие как трансгенные растения и животные, в качестве исходного материала для получения экстракта лизированных клеток могут быть использованы ткани или органы. Кроме того, получение белков в трансгенных животных может включать получение полипептидов в молоке или яйцах, которые могут быть собраны, и затем при необходимости белки могут быть выделены и очищены с использованием стандартных способов, известных в уровне техники.

FVII может быть очищен с использованием стандартных способов очистки белков, известных в уровне техники, включая, но не ограничиваясь SDS-PAGE, эксклюзионной хроматографией и хроматографией по размеру, осаждением сульфатом аммония, хелатной хроматографией и ионообменной хроматографией. Например, полипептиды FVII могут быть очищены анионообменной хроматографией. Примером способа очистки полипептида FVII является использование ионообменной колонки, которая позволяет связать любой полипептид, который имеет функциональный домен Gla, и последующее элюирование в присутствии кальция (см., пример 2). Для повышения выхода и чистоты препаратов также могут быть использованы методы аффинной очистки. Например, для аффинной очистки могут быть использованы антитела, рецепторы и другие молекулы, которые связывают FVII. В другом примере очистка также может быть улучшена при использовании аффинной колонки с растворимым ТФ (рТФ) (Maun и др., (2005). Prot. Sci. 14:1171-1180). В экспрессионных конструкциях к белку может быть добавлена аффинная метка, такая как myc эпитоп, слитая последовательность GST или His6, и аффинная очистка может быть проведена с помощью myc антител, смолы с глутатионом и Ni-смолы соответственно. Чистота может быть оценена любым способом, известным в уровне техники, включая гель-электрофорез, окрашивание и спектрофотометрические методы.

Протеаза FVII может быть экспрессирована и очищена в неактивной форме (зимогенной форме) либо экспрессированная протеаза может быть очищена в активной форме, например, после автокатализа. Например, in vitro могут быть получены полипептиды FVII, которые были активированы через протеолитическое расщепление Arg152-Ile153 (т.е. FVIIa, двухцепочечная форма). Полипептиды FVII могут быть получены по любому из способов, описанных в настоящем документе, включая, но не ограничиваясь получением в клетках млекопитающих с последующей очисткой. Расщепление полипептидов FVII с образованием активной формы протеазы FVIIa может быть выполнено несколькими способами. Например, при инкубации с фосфолипидными везикулами в присутствии кальция в течение 45 мин может быть достигнута самоактивация (Nelsestuen и др., (2001) J. Biol. Chem. 276:39825-31). Полипептиды FVII также могут быть полностью активированы посредством инкубации с фактором Xa, фактором XIIa или ТФ в присутствии кальция, в присутствии или в отсутствие фосфолипидов (см. пример 2 и Broze и др., (1980) J. Biol. Chem. 255:1242-1247, Higashi и др., (1996) J. Biol. Chem. 271:26569-26574, Harvey и др., J. Biol. Chem. 278:8363-8369).

3. Гибридные белки.

Также предусмотрены гибридные белки, содержащие модифицированный полипептид FVII и один или нескольких других полипептидов. Предусмотрены фармацевтические композиции, содержащие такие гибридные белки, составленные для введения подходящим путем. Гибридные белки получают соединением в любом порядке модифицированного полипептида FVII и агента, такого как антитело или его фрагмент, фактор роста, рецептор, лиганд и другие подобные агенты для облегчения очистки полипептида FVII, изменения фармакодинамических свойств полипептида FVII, для направления полипепти-

да FVII, например, направления полипептида в целевые клетки или ткани и/или для увеличения экспрессии или секреции полипептида FVII. Как правило, любой гибридный белок FVII сохраняет по меньшей мере приблизительно 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 95% коагулянтной активности по сравнению с не гибридным полипептидом FVII, в том числе 96, 97, 98, 99% или более коагулянтной активности по сравнению с не гибридным полипептидом.

Связь полипептида FVII с другим полипептидом может быть осуществлена непосредственно или через линкер. В одном примере связь может представлять собой химическую связь, например связь через гетеробифункциональный агент, тиоловую связь или другую такую связь. Гибридные белки также могут быть получены с помощью рекомбинантной методики. Слитый с полипептидом FVII другой полипептид может быть присоединен на N-конце или C-конце полипептида FVII. Не ограничивающие примеры полипептидов, которые могут быть использованы для получения гибридных белков с полипептидом FVII по настоящему изобретению, включают, например, полипептид GST (глутатион S-трансферазу), Fc домен иммуноглобулина G или гетерологичную сигнальную последовательность. Гибридные белки могут содержать дополнительные компоненты, такие как связывающий мальтозу белок E. coli (MBP), которые способствуют поглощению белка клетками (см., международную заявку PCT WO 01/32711).

Гибридный белок может быть получен стандартными рекомбинантными методами. Например, фрагменты ДНК, кодирующие различные последовательности полипептидов, могут быть лигированы друг с другом с совпадением рамки считывания в соответствии с обычными способами, например с использованием тупых или липких концов для лигирования, расщепления эндонуклеазой рестрикции для обеспечения соответствующих концов, заполнения липких концов в соответствующих случаях, обработки щелочной фосфатазой для избежания нежелательного лигирования и ферментативного лигирования. В другом варианте гибридные гены могут быть синтезированы обычными способами, включая автоматизированный синтез ДНК. Кроме того, ПЦР-амплификация фрагментов генов может осуществляться с использованием праймеров, которые приводят к комплементарным одноцепочечным участкам между двумя последовательными фрагментами гена, которые затем могут быть отожжены и реамплифицированы для создания последовательности химерного гена (см., например, Ausubel и др., Current Protocols In Molecular Biology, (изд.) John Wiley & Sons, 1992). Кроме того, доступны многие векторы экспрессии, которые уже кодируют гибридный фрагмент (например, полипептид GST). Кодирующая FVII нуклеиновая кислота может быть клонирована в таком векторе экспрессии, причем гибридный фрагмент может быть связан с протеазой с совпадением рамки считывания.

4. Модификации полипептидов.

Модифицированные полипептиды FVII могут быть получены в виде посттрансляционно немодифицированных полипептидных цепей или в виде комплекса. Для некоторых целей может быть предпочтительным получение модифицированного FVII в посттрансляционно немодифицированном виде без посттрансляционных или других химических модификаций. Немодифицированные посттрансляционно полипептидные цепи могут быть получены в подходящих хозяевах, которые не осуществляют посттрансляционную модификацию FVII. Такие полипептиды также могут быть получены в in vitro системах и с использованием химического синтеза полипептидов. Для других целей могут быть желательны специфические модификации, включая пегилирование, альбуминирование, гликозилирование, карбоксилирование, гидроксилирование, фосфорилирование или другие известные модификации. Модификации могут быть введены in vitro или, например, при получении модифицированных FVII в подходящем хозяине, который производит такие модификации.

5. Нуклеотидные последовательности.

В настоящем документе предусмотрены молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие FVII или модифицированные полипептиды FVII. Молекулы нуклеиновых кислот включают аллельные варианты или варианты сплайсинга любого закодированного полипептида FVII. Примеры предусмотренных здесь молекул нуклеиновых кислот включают любые молекулы, которые кодируют модифицированные полипептиды FVII по настоящему документу, такие как любые молекулы, кодирующие полипептиды, приведенные в любой из SEQ ID NO: 113-273. В одном из вариантов, молекулы нуклеиновой кислоты, предусмотренные в настоящем документе, по меньшей мере на 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95 или 99% идентичны по последовательности любой нуклеиновой кислоте, кодирующей полипептид FVII, предусмотренный в настоящем документе, или гибридизуются в условиях средней или высокой жесткости по меньшей мере на 70% полной длины с любой нуклеиновой кислотой, кодирующей полипептид FVII, предусмотренный в настоящем документе. В другом варианте молекулы нуклеиновой кислоты могут включать молекулы с вырожденными кодонами, кодирующие любой из предусмотренных полипептидов FVII.

F. Оценка активности модифицированных полипептидов FVII.

Активности и свойства полипептидов FVII можно оценить in vitro и/или in vivo. Анализы для такой оценки известны специалистам в данной области, а также известна корреляция измеренной активности и терапевтического результата и in vivo активности. В одном примере варианты FVII могут быть оценены по сравнению с немодифицированным FVII и/или FVII дикого типа. В другом примере активность модифицированного полипептида FVII может быть оценена после экспозиции in vitro или in vivo с AT-III и

сравнена с активностью модифицированного полипептида FVII, который не был подвержен действию AT-III. Такие анализы могут быть выполнены в присутствии или в отсутствие ТФ. In vitro анализы включают любые лабораторные анализы, известные специалистам в данной области, такие как, например, анализы с использованием клеток, в том числе анализы на коагуляцию, анализы на связывание, белковые анализы и молекулярно-биологические анализы. In vivo анализы включают тестирование FVII на животных моделях, а также введение FVII человеку. В некоторых случаях активность FVII in vivo может быть определена на основе оценки крови, сыворотки или других жидкостей организма. Варианты FVII также могут быть исследованы in vivo для оценки их активности или свойств, таких как терапевтический эффект.

Как правило, анализы, описанные здесь, проводят на двухцепочечной активированной форме FVII, т.е. FVIIa. Такие анализы также могут быть выполнены на одноцепоченой форме в качестве отрицательного контроля, поскольку такая форма, как правило, не обладает протеолитической или каталитической активностью, необходимой для коагулянтной активности FVII. Кроме того, такие анализы также могут быть выполнены в присутствии кофакторов, таких как ТФ, которые в некоторых случаях увеличивают активность FVII.

1. In vitro анализы.

Примеры in vitro анализов включают анализы для оценки модификаций и активности полипептидов. Модификации могут быть оценены с помощью in vitro анализов для оценки γ-карбоксилирования и других посттрансляционных модификаций, белковых анализов и конформационных анализов, известных в уровне техники. Анализы для определения активности включают, но не ограничиваются оценкой взаимодействия FVII с другими факторами свертывания, такими как ТФ, фактор X и фактор IX, протеолитическими анализами для определения протеолитической активности полипептидов FVII, анализами для определения связывания и/или аффинности полипептидов FVII к фосфатидилсерину и другим фосфолипидам и анализами с использованием клеток для определения влияния полипептидов FVII на коагуляцию.

Концентрации модифицированных полипептидов FVII могут быть оценены хорошо известными в уровне техники способами, включая, но не ограничиваясь, иммуноферментный анализ (ИФА), SDS-PAGE, методы Брэдфорда, Лоури, BCA (бицинхониновая кислота); измерение УФ-поглощения, а также другие методы количественного мечения белка, включая, но не ограничиваясь, иммунологические методы, связанные с радиоактивностью методы, флуоресцентные и связанные с ними методы.

Оценка продуктов расщепления протеолитических реакций, в том числе оценка расщепления полипептидов FVII или оценка содержания продуктов протеолитической активности FVII, может быть выполнена с использованием способов, включающих, но не ограничивающихся расщеплением хромогенного субстрата, ВЭЖХ, SDS-анализом, ИФА, иммуноблоттингом, иммуногистохимическим анализом, иммунопреципитацией, определением последовательности с NH_2-конца и мечением белка. Также могут быть оценены структурные свойства модифицированных полипептидов FVII. Например, для оценки трехмерной структуры полипептидов FVII и/или других свойств полипептидов FVII, таких как связывание Ca^{2+} или кофактора, могут быть использованы рентгеновская кристаллография, ядерный магнитный резонанс (ЯМР) и криоэлектронная микроскопия (крио-ЭМ) модифицированных полипептидов FVII. Кроме того, наличие и степень деградации FVII может быть измерена с помощью стандартных способов, таких как электрофорез полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (SDS-PAGE) и иммуноблоттинг подвергнутых электрофорезу FVII-содержащих образцов. В полипептидах FVII, которые подверглись воздействию протеазы, может быть также определена последовательность с N-конца для определения местонахождения сайтов расщепления или изменения в сайтах расщепления в модифицированных полипептидах FVII.

a. Посттрансляционные модификации.

Полипептиды FVII также могут быть оценены на наличие посттрансляционных модификаций. Такие анализы известны в уровне техники и включают анализы для оценки гликозилирования, гидроксилирования и карбоксилирования. Например, для анализа гликозилирования может быть выполнен анализ углеводов, например, совместно с SDS-PAGE анализом полипептидов FVII, подвергнутых гидразинолизу или обработанных эндогликозидазой. Гидразинолиз при инкубации белка с безводным гидразином приводит к отделению N- и O-связанных гликанов от гликопротеина, а обработка эндогликозидазой ПНГазой F приводит к отделению большей части N-гликанов из гликопротеина. Гидразинолиз или обработка эндогликозидазой полипептидов FVII приводит к образованию восстанавливающего конца, который может быть помечен флуорофорной или хромофорной меткой. Меченые полипептиды FVII могут быть проанализированы флуорофорным электрофорезом углеводов (FACE). Флуоресцентное мечение гликанов также может быть использовано при анализе моносахаридов, профилировании или анализе особенностей структуры сложных паттернов гликозилирования с помощью ВЭЖХ. Примеры ВЭЖХ включают гидрофильную хроматографию, хроматографию электронного взаимодействия, ионообменную, гидрофобную хроматографию и гель-хроматографию. Примеры меток для гликанов включают, но не ограничиваются 3-(ацетиламино)-6-аминоакридином (AA-AC) и 2-аминобензойной кислотой (2-AA). Углеводные фрагменты также могут быть обнаружены с использованием специфических антител, которые рас-

познают гликозилированный полипептид FVII.

Пример анализа для оценки β-гидроксилирования включает обратнофазный ВЭЖХ анализ полипептидов FVII, которые были подвергнуты щелочному гидролизу (Przysiecki и др., (1987) 84:7856-7860 PNAS).

Карбоксилирование и γ-карбоксилирование полипептидов FVII может быть оценено с использованием масс-спектрометрии с матричной лазерной десорбционной ионизацией и определением времени пролета (MALDI-TOF), как описано в уровне техники (см., например, Harvey и др., J. Biol. Chem. 278: 8363-8369, Maun и др., Prot Sci 14:1171-0 1180). Также может быть оценено взаимодействие полипептидов FVII, содержащих пропептидную последовательность (про-FVII), с карбоксилазой, ответственной за посттрансляционное γ-карбоксилирование. Константа диссоциации (K_d) может быть измерена после инкубации карбоксилазы с флуоресцеин-меченым про-FVII полипептидом путем определения количества связанной карбоксилазы по анизотропии (Lin и др. (2004) J. Biol. Chem. 279: 6560-6566).

b. Протеолитическая активность.

Модифицированные полипептиды FVII могут быть оценены на протеолитическую активность. Протеолитическая активность FVII может быть измерена с помощью хромогенных субстратов, таких как Chromozym t-PA ($MeSO_2$-D-Phe-Gly-Arg-pNA), S-2288 (H-D-Ile-Pro-Arg-pNA), S-2266 (H-D-Val-Leu-Arg-pNA), S-2765 (Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA), Spectrozyme FXa и Spectrozyme FVIIa (CH_3SO_2-D-CHA-But-Arg-pNA). Полипептиды FVII в присутствии ТФ или в отсутствие ТФ инкубировали с различными концентрациями хромогенного субстрата. Расщепление субстрата можно контролировать по оптическому поглощению, а скорость гидролиза субстрата можно определить линейной регрессией с использованием доступного программного обеспечения. Активация полипептидом FVII субстратов факторов свертывания, таких как FX, также может быть оценена. FVII полипептиды, предварительно инкубированные с ТФ или не инкубированные с ТФ, инкубировали с очищенным FX (коммерчески доступен). Количество активного FXa, полученного в результате инкубации с полипептидом FVII, определяется как активность FXa по отношению к хромогенному субстрату, такому как S-2222 или Spectrafluor FXa (CH_3SO_2-D-CHA-Gly-ATg-AMC.AcOH), которую измеряли по изменению абсорбции (Harvey и др., J. Biol. Chem. 278:8363-8369, см. также пример 4 ниже). Также при инкубации FVII и FX может быть включен источник фосфолипидов (Nelsestuen и др., (2001) J. Biol. Chem. 276:39825-31).

c. Коагулянтная активность.

Коагулянтная активность полипептидов FVII может быть оценена с помощью известных в уровне техники анализов. Примеры анализов включают, но не ограничиваются двухэтапным анализом свертывания (Liebman и др., (1985) 82:3879-3883 PNAS); анализом протромбинового времени (ПВ, которое может быть показателем ТФ-зависимой активности FVIIa во внешнем пути); модификациями анализа ПВ; активированным частичным тромбопластиновым временем (АЧТВ, которое может быть показателем ТФ-независимой активности FVIIa); активированным временем свертывания (АВС); рекальцифицированным активированным временем свертывания; временем свертывания Ли-Уайта или тромбоэластографией (ТЭГ) (Pusateri и др., (2005) Critical Care 9: S15-S24.). Например, коагулянтная активность модифицированного полипептида FVII может быть определена с помощью анализа ПВ, в котором FVII разводят в FVII-дефицитной плазме и смешивают с реагентом для определения протромбинового времени (рекомбинантный ТФ с фосфолипидами и кальцием), например, доступным под названием Innovin™ от Dade Behring. Образование сгустка определяют оптически, находят требующееся для образования сгустка время и сравнивают его с временем для FVII-дефицитной плазмы.

d. Связывание и/или ингибирование другими белками и молекулами.

Для измерения устойчивости модифицированных полипептидов FVII к ингибиторам FVII, таким как, например, AT-III и TFPI, или молекулам, таким как Zn^{2+}, могут быть использованы анализы ингибирования. Также может быть проведена оценка ингибирования другими ингибиторами, которые включают, но не ограничиваются другими ингибиторами сериновых протеаз и FVII-специфическими антителами. Ингибирование может быть оценено, например, после инкубации AT-III, TFPI или Zn^{2+} с полипептидами FVII, которые предварительно инкубировали с ТФ и/или без ТФ. Активность FVII может быть измерена с помощью одного или нескольких анализов активности или анализов коагуляции, описанных выше, и ингибирование AT-III, TFPI, или Zn^{2+} можно оценить путем сравнения активности полипептидов FVII, которые инкубировали с ингибитором, с активностью полипептидов FVII, которые не инкубировали с ингибитором.

Полипептиды FVII могут быть оценены на связывание с другими факторами коагуляции и ингибиторами. Например, прямое и непрямое взаимодействие FVII с кофакторами, такими как ТФ, субстратами, такими как FX и FIX, и ингибиторами, такими как антитромбин III, TFPI и гепарин, может быть оценено с использованием каких-либо анализов связывания, известных в уровне техники, включая, но не ограничиваясь иммунопреципитацией, колоночной очисткой, невосстанавливающим SDS-PAGE, анализами BIAcore®, поверхностным плазмонным резонансом (SPR), флуоресцентным резонансным переносом энергии (FRET), поляризацией флуоресценции (FP), изотермическим калориметрическим титрованием (ITC), круговым дихроизмом (КД), анализом на комплементацию фрагментов белка (PCA), ядерным

магнитным резонансом (ЯМР), рассеянием света, седиментационным равновесием, гель-фильтрацией с малыми зонами, торможением в геле, фар-вестерн блоттингом, поляризацией флуоресценции, гидроксил-радикальным футпринтингом белка, фаговым дисплеем, а также различными двухгибридными системами. В одном примере связывание Zn оценивают с помощью равновесного анализа (Petersen и др., (2000) Prot Sci 9:859-866).

е. Аффинность к фосфолипидам.

Связывание и/или аффинность модифицированных полипептидов FVII к фосфатидилсерину (ФС) и другим фосфолипидам могут быть определены с помощью хорошо известных в уровне техники анализов. Высокочистые фосфолипиды (например, ФС крупного рогатого скота в известной концентрации и яичный фосфатидилхолин (ФХ)), которые являются коммерчески доступными, например, от Sigma, и растворены в органическом растворителе, могут быть использованы для получения малых однослойных фосфолипидных везикул. Связывание полипептида FVII с этими ФС/ФХ везикулами может быть оценено по относительному рассеянию света под углом 90° к падающему свету. Для определения константы диссоциации измеряют интенсивности рассеяния света на ФС/ФХ везикулах и на ФС/ФХ/FVII везикулах (Harvey и др., J. Biol. Chem. 278:8363-8369). Поверхностный плазмонный резонанс, например, измеренный на биосенсоре BIAcore, также может быть использован для измерения сродства полипептидов FVII к фосфолипидам мембран (Sun и др., Blood 101: 2277-2284).

2. Модели на животных, не включающих человека.

Модели на животных, не включающих человека, могут быть использованы для оценки активности, эффективности и безопасности модифицированных полипептидов FVII. Например, животные, не включающие человека, могут быть использованы для моделирования заболевания или состояния. Животные, не включающие человека, могут быть инъецированы веществом, вызывающим заболевание и/или индуцирующим фенотип, затем животному может быть введен вариант FVII, такой как любой вариант FVII, приведенный в любом из SEQ ID NO: 113-273, и может быть проведен мониторинг воздействия полипептида на развитие заболевания. Генетические модели также являются полезными. Могут быть получены животные, такие как мыши, которые в результате гиперэкспрессии, недостаточной экспрессии или нокаута одного или нескольких генов имитируют заболевания или состояния, например, могут быть получены мыши с нокаутом фактора VIII, которые проявляют гемофилию А (Bi и др., (1995) Nat Gen 10: 119-121). Такие животные могут быть получены согласно технологии получения трансгенных животных, хорошо известной в уровне техники, или с использованием природных или индуцированных мутантных штаммов. Примеры полезных моделей заболеваний, связанных с FVII, на животных, не включающих человека, включают, но не ограничиваются моделями нарушений свертываемости крови, в частности, моделями гемофилии или тромбоза. Модели травмы на животных, не включающих человека, также могут быть использованы для оценки активности полипептидов FVII, такой как коагулянтная активность. Указанные модели на животных, не включающих человека, могут быть использованы для мониторинга активности вариантов FVII по сравнению с полипептидом FVII дикого типа. Модели на животных также могут быть использованы для мониторинга стабильности, периода полураспада и клиренса модифицированных полипептидов FVII. Такие анализы полезны для сравнения модифицированных полипептидов FVII и для расчета доз и режима дозирования для дальнейших исследований на животных и человеке. Например, модифицированный полипептид FVII, такой как любой вариант FVII, предусмотренный в настоящем документе, в том числе, например, любой полипептид, приведенный в любой из последовательностей SEQ ID NO: 113-273, может быть введен в хвостовую вену мыши. Затем через определенные интервалы времени после инъекции могут быть отобраны образцы крови (например, через минуты, часы и дни после введения), и в образцах, включающих, но не ограничивающихся сывороткой или плазмой, через определенные интервалы времени после введения может быть определен уровень модифицированных полипептидов FVII, например, с помощью ИФА или радиоиммуноанализа. Образцы крови, отобранные через определенные интервалы времени после инъекции полипептидов FVII, также могут быть исследованы на коагулянтную активность с использованием различных способов, таких как описанные в примере 9. Указанные фармакокинетические исследования могут предоставить информацию о полураспаде, клиренсе и стабильности полипептидов FVII, которая может помочь в определении подходящих доз для введения прокоагулянта.

Модифицированный полипептид FVII, такой как любой полипептид, приведенный в любой из последовательностей SEQ ID NO: 113-273, может быть проверен на терапевтическую эффективность в моделях на животных для гемофилии. В одном не ограничивающем примере могут быть использованы модели на животных, таких как мыши. Мышиные модели гемофилии, имеющиеся в уровне техники, могут быть использованы для тестирования модифицированных полипептидов FVII. Например, мышиная модель гемофилии, получаемая путем инъекции анти-FVIII антител, может быть использована для оценки коагулянтной активности полипептида FVII (см. пример 6 и Tranholm и др., Blood (2003) 102:3615-3620). Мышиная модель гемофилии В также может быть использована для тестирования полипептидов FVII (Margaritis и др., (2004). J. Clin. Invest 113:1025-1031). Также существуют не мышиные модели нарушений свертываемости крови. Активность полипептида FVII может быть оценена на крысах с индуцированным варфарином кровотечением или индуцированным мелатраном кровотечением (Diness и др.,

(1992) Thromb Res 67:233-241, Elg и др., (2001) Thromb Res 101:145-157) и на кроликах с индуцированным гепарином кровотечением (Chen и др., (2003) J. Thromb. Haemost 1: 760-765). Инбредные собаки с гемофилией A, гемофилией B и болезнью Виллебранда, которые проявляют сильные кровотечения, также могут быть использованы в исследованиях полипептида FVII (Brinkhous и др., (1989) 86:1382-1386 PNAS). Активность полипептидов FVII также может быть оценена в модели кровотечения на кролике с тромбоцитопенией, индуцированной сочетанием γ-облучения и использования антител против тромбоцитов (Tranholm и др., (2003) Thromb Res 109: 217-223).

В дополнение к животным с генерализованными нарушениями свертываемости крови для оценки активности полипептидов FVII, их безопасности и эффективности в качестве терапевтических коагулянтов также могут быть использованы модели ранения и травмы. Не ограничивающие примеры таких моделей включают модель коронарного стеноза на кролике (Fatorutto и др., (2004). Can. J. Anaesth 51: 672-679), модель травмы печени V класса у свиней (Lynn и др., (2002) J. Trauma 52:703-707), модель травмы печени V класса у свиней (Martinowitz и др., (2001) J. Trauma 50: 721-729) и модель аортотомии у свиней (Sondeen и др., (2004) Shock 22: 163-168).

3. Клинические анализы.

Для оценки активности FVII для клинического использования доступно множество анализов. Такие анализы могут включать оценку коагуляции, стабильности белков и периода полураспада in vivo и фенотипические анализы. Фенотипические анализы и тесты для оценки терапевтического эффекта лечения фактором FVII включают оценку уровня FVII в крови (например, измерение уровня FVII в сыворотке до введения и через определенные интервалы времени после введения, в том числе после первого введения, непосредственно после последнего введения и в определенные моменты времени между ними с поправкой на индекс массы тела (ИМТ)), оценку свертывания крови после лечения FVII in vitro с использованием способов, описанных выше (например, ПВ анализ), и фенотипический ответ на лечение FVII, включая улучшение симптомов во времени по сравнению с субъектами, которым вводили немодифицированный FVII и/или FVII дикого типа или плацебо. У пациентов, получавших полипептид FVII, можно оценить потерю крови, потребность в переливании и уровень гемоглобина. Пациенты могут наблюдаться регулярно в течение определенного периода времени при регулярных или повторных введениях или после введения в ответ на острую необходимость, такую как кровотечение, травма или хирургическое вмешательство.

G. Композиции и введение.

В настоящем документе предусмотрены композиции для использования в лечении нарушений свертываемости крови. Такие композиции содержат терапевтически эффективное количество полипептида фактора VII, как описано здесь. Эффективные концентрации полипептида FVII или его фармацевтически приемлемого производного смешивают с подходящим фармацевтическим носителем или средой для системного, местного или локального введения.

Количество соединения эффективно для лечения выбранного расстройства. Концентрация активного вещества в композиции зависит от поглощения, инактивации, экскреции активного соединения, графика дозирования и количества ведений, а также от других факторов, известных специалистам в данной области. Фармацевтические носители или среды, пригодные для применения соединений, предусмотренных в настоящем документе, включают носители, известные специалистам в данной области, подходящие для определенного способа введения. Фармацевтические композиции, которые включают терапевтически эффективное количество полипептида FVII, описанного в настоящем документе, также могут быть предусмотрены в виде лиофилизированного порошка, который может быть восстановлен, например, стерильной водой, непосредственно перед введением.

1. Композиции.

Фармацевтические композиции, содержащие модифицированный FVII, могут быть составлены любым обычным способом путем смешивания выбранного количества полипептида с одним или несколькими физиологически приемлемыми носителями или наполнителями. Выбор носителя или наполнителя находится в пределах компетенции специалиста в данной области и может зависеть от целого ряда параметров. К ним относятся, например, способ введения (например, системный, оральный, назальный, легочный, местный, локальный или любой другой способ) и подвергаемое лечению расстройство. Фармацевтические композиции, предусмотренные в настоящем документе, могут быть составлены для введения одной дозой (непосредственно) или для разведения или других модификаций. Концентрации соединений в композиции являются эффективными для доставки такого количества соединения, которое после введения является эффективным для предусмотренного лечения. Как правило, композиции составлены для введения одной дозой. Для получения композиции навеску, рассчитанную как массовая доля соединений или их смеси, растворяют, суспендируют, диспергируют или иным образом смешивают в выбранном носителе в эффективной концентрации, такой, что подвергающееся лечению состояние улучшается или уменьшается. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть включены в композицию для введения субъекту в виде двухцепочечного белка FVIIa. Модифицированные полипептиды FVII могут быть активированы до включения в композицию любым способом, известным в уровне техники. Например, FVII может пройти самоактивацию в процессе очистки с

помощью ионообменной хроматографии (Jurlander и др., (2001) Semin Thromb Hemost 27:373-384). Модифицированные полипептиды FVII также могут быть активированы путем инкубации с иммобилизованным на шариках FXa (Kemball-Cook и др., (1998) J. Biol. Chem. 273:8516-8521) или любыми другими способами, известными в уровне техники (см. также пример 2 ниже). Введение кальция в среду при этих процессах обеспечивает полную активацию и правильный фолдинг модифицированного белка FVIIa. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, также могут быть введены в композицию для введения в виде одноцепоченого белка. Одноцепочечные полипептиды FVII могут быть очищены таким образом, чтобы предотвратить расщепление (см., например, US6677440). Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть введены в композицию с соответствующей селективной средой, предотвращающей или контролирующей самоактивацию, так что одноцепоченая и двухцепочечная формы содержатся в фармацевтической композиции в любом соотношении. Соединение может быть суспендировано в микронизированной или другой подходящей форме или может быть изменено для получения более растворимого активного продукта. Форма полученной смеси зависит от ряда факторов, в том числе предусмотренного способа введения и растворимости соединения в выбранном носителе или среде. Полученные смеси представляют собой растворы, суспензии, эмульсии и другие подобные смеси, а также могут быть получены в виде неводной или водной смеси, крема, геля, мази, эмульсии, раствора, эликсира, лосьона, суспензии, настойки, пасты, пены, аэрозоля, состава для промывания, спрея, свечей, бинтов или любой другой композиции, подходящей для системного, местного или локального введения. Для местного внутреннего введения, такого как внутримышечное, парентеральное или внутрисуставное введение, полипептиды могут быть введены в композицию в виде раствора, суспензии в среде на водной основе, такой как изотоничный буферный раствор, или введены в композицию в сочетании с биосовместимым носителем или биоадгезивным материалом, предназначенным для внутреннего введения. Эффективная концентрация достаточна для улучшения состояния, на которое направлено лечение, и может быть определена эмпирически. Для составления композиции навеску соединения растворяют, суспендируют, диспергируют или иным образом смешивают с выбранным носителем с достижением эффективной концентрации, такой, что выбранное состояние улучшается или уменьшается.

Как правило, фармацевтически приемлемые композиции получают в соответствии с требованиями регулирующего органа или получают в соответствии с общепризнанной фармакопеей для использования на животных и для человека. Фармацевтические композиции могут включать в себя вспомогательные вещества, такие как разбавитель, адъювант, наполнитель или носитель, с которыми вводят изоформу. Такие фармацевтические носители могут представлять собой стерильную жидкость, такую как вода и масло, в том числе масло нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такое как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло и кунжутное масло. Вода является типичным носителем, если фармацевтическую композицию вводят внутривенно. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также могут быть использованы в качестве жидкого носителя, особенно в качестве раствора для инъекций. Композиции наряду с активным ингредиентом могут содержать разбавитель, такой как лактоза, сахароза, дикальция фосфат или карбоксиметилцеллюлоза; смазку, такую как стеарат магния, стеарат кальция, тальк и связующее, такое как крахмал, натуральные смолы, такие как камедь, гуммиарабик, желатин, глюкоза, патока, поливинилпирролидон, целлюлоза и ее производные, повидон, кросповидоны и другие подобные связующие, известные специалистам в данной области. Подходящие фармацевтические наполнители представляют собой крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рисовую муку, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропилен гликоль, воду и этанол. Композиция, по желанию, также может содержать небольшие количества смачивателя или эмульгатора, или буферных агентов, например, ацетата, цитрата натрия, производных циклодекстрина, сорбитанмонолаурата, ацетата натрия, триэтаноламина, триэтаноламинолеата и других подобных агентов. Эти композиции могут быть в форме раствора, суспензии, эмульсии, таблетки, пилюли, капсулы, порошка и в форме с устойчивым высвобождением препарата. Могут быть изготовлены капсулы и картриджи, например, из желатина для использования в ингаляторе или инсуффляторе, содержащие порошок, представляющий собой смесь терапевтического соединения и подходящей порошковой основы, такой как лактоза или крахмал. Композиция может быть приготовлена в виде свечей с обычными связующим и носителем, такими как триглицериды. Оральная композиция может включать стандартные носители, такие как маннит, лактозу, крахмал, стеарат магния, сахарин натрия, целлюлозу, карбонат магния фармацевтической чистоты и другие подобные агенты. Рецептура для орального введения также может содержать ингибиторы протеаз, такие как ингибитор Боумена-Бирка, конъюгированный ингибитор Боумена-Бирка, апротинин и камостат. Примеры подходящих фармацевтических носителей описаны в "Remington's Pharmaceutical Sciences" E.W. Martin. Такие композиции будут содержать терапевтически эффективное количество соединения, обычно, в очищенном виде вместе с подходящим количеством носителя для обеспечения надлежащей формы введения субъекту или пациенту.

Композиция должна соответствовать способу введения. Например, модифицированные FVII могут быть введены в композицию для парентерального введения путем инъекции (например, путем болюсной

инъекции или непрерывной инфузии). Инъекционные составы могут иметь форму суспензии, раствора или эмульсии в масляном или водном носителе. Стерильные инъекционные рецептуры также могут представлять собой стерильные инъекционные растворы или суспензии в нетоксичном парентерально-приемлемом разбавителе или растворителе, например могут представлять собой раствор в 1,4-бутандиоле. Стерильные жирные масла обычно применяют в качестве растворителя или среды суспендирования. Для этой цели может быть использовано любое мягкое жирное масло, включая, но не ограничиваясь, синтетические моно- или диглицериды, жирные кислоты (в том числе олеиновая кислота), естественные растительные масла, например кунжутное масло, кокосовое масло, арахисовое масло, хлопковое масло и другие масла, или синтетические жирные носители, такие как этилолеат. Буферы, консерванты, антиоксиданты и подходящие ингредиенты могут быть включены в композицию, если это необходимо, или, наоборот, могут содержать композицию.

Полипептиды могут представлять собой единственный фармацевтически активный ингредиент в композиции или могут быть объединены с другими активными ингредиентами. Доставка полипептидов может быть направленной, например, при конъюгировании с нацеливающим агентом, таким как антитело. Суспензии липосом, в том числе нацеленных на определенную ткань липосом, также могут быть пригодны в качестве фармацевтически приемлемого носителя. Они могут быть получены в соответствии со способами, известными специалистам в данной области. Например, липосомные композиции могут быть получены, как описано в патенте США № 4522811. Липосомная доставка также может включать композиции с медленным высвобождением, в том числе фармацевтические матрицы, такие как коллагеновые гели и липосомы, модифицированные фибронектином (см., например, Weiner и др., (1985) J. Pharm. Sci. 74 (9): 922-5). Композиции, предусмотренные в настоящем документе, дополнительно могут содержать один или несколько адъювантов, которые облегчают доставку, включая, но не ограничиваясь инертными носителями или коллоидными дисперсионными системами. Не ограничивающие примеры таких инертных носителей могут быть выбраны из воды, изопропилового спирта, газообразных фторуглеродов, этилового спирта, поливинилпирролидона, пропиленгликоля, продуцирующих гель материалов, стеарилового спирта, стеариновой кислоты, спермацета, сорбитанмоноолеата, метилцеллюлозы, а также из подходящих комбинаций двух или более из них. Активное соединение включено в фармацевтически приемлемый носитель в количестве, достаточном для оказания терапевтического эффекта в отсутствие нежелательных побочных эффектов у субъекта, подвергающегося лечению. Терапевтически эффективная концентрация может быть определена эмпирически путем тестирования соединений в известных in vitro системах и естественных системах, например, предусмотренных в настоящем документе.

а. Дозировки.

Точное количество или доза вводимого лекарственного средства зависит от конкретного полипептида FVII, пути введения и других соображений, таких как тяжесть заболевания, вес и общее состояние субъекта. Местное введение терапевтического агента, как правило, требует меньших доз, чем любой режим системного введения, хотя локальная концентрация терапевтического агента может, в некоторых случаях, быть выше после местного введения, чем концентрация, которая может быть достигнута при безопасном системном введении. При необходимости конкретная дозировка, протокол и продолжительность лечения могут быть эмпирически определены или экстраполированы. Примеры доз рекомбинантных полипептидов и нативного FVII могут быть использованы в качестве отправной точки для определения нужных дозировок. Например, рекомбинантный полипептид FVII (rFVIIa), который был активирован с образованием rFVIIa, Novoseven®, вводили пациентам с гемофилией А или гемофилией В при кровотечении в дозе 90 мкг/кг болюсной инфузией от 2 до 5 мин, достигая эффективного уровня в крови не менее 2 мкг/мл. Введение повторяли каждые 2 ч до достижения гемостаза. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть эффективны при меньшем количестве и/или частоте введений по сравнению с указанным рекомбинантным FVII. Например, модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, можно вводить в дозе 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 15 мкг/кг или менее. В некоторых вариантах дозы могут быть выше и составлять, например, 100, 110, 120 мкг/кг или более. Длительность лечения и интервал между инъекциями может меняться в зависимости от тяжести кровотечения и реакции пациента на лечение и может быть скорректирован соответствующим образом. При определении доз могут быть приняты во внимание такие факторы как уровень активности и период полураспада модифицированного FVII по сравнению с немодифицированным FVII. Конкретные дозы и режимы введения могут быть определены эмпирически.

В другом примере, рекомбинантный полипептид FVII (rFVIIa), который был активирован с образованием rFVIIa, Novoseven®, вводили пациентам с врожденным дефицитом FVII при кровотечении в дозе 15-30 мкг/кг болюсной инфузией от 2 до 5 мин. Введение повторяли каждые 4-6 ч до достижения гемостаза. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть эффективны при пониженных дозах и/или частоте введений по сравнению с указанным рекомбинантным FVII. Например, модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, можно вводить в дозе 20, 15, 10, 5, 3 мкг/кг или менее. В некоторых примерах дозы могут быть выше и составлять, например, 35, 40, 45 мкг/кг или более. Длительность лечения и интервал между инъекциями

может меняться в зависимости от тяжести кровотечения и реакции пациента на лечение и может быть скорректирован соответствующим образом. При определении доз могут быть приняты во внимание такие факторы как уровень активности и период полураспада модифицированного FVII по сравнению с немодифицированным FVII. Например, модифицированный полипептид FVII, который обладает более длительным периодом полураспада, чем немодифицированный полипептид FVII, может вводиться в более низких дозах и/или менее часто, чем немодифицированный полипептид FVII. Аналогично, необходимый для достижения терапевтического эффекта модифицированный полипептид FVII, который проявляет увеличенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII, могут вводиться реже и в меньшем количестве. Конкретные дозы и режимы введения могут быть определены эмпирически специалистом в области техники.

b. Дозированные формы.

Фармацевтические терапевтически активные соединения и их производные, как правило, включают в композиции и вводят в единичных дозированных формах или множественных дозированных формах. Могут быть предусмотрены композиции для введения людям и животным в лекарственных формах, которые включают, но не ограничиваются таблетками, капсулами, пилюлями, порошками, гранулами, стерильными парентеральными растворами или суспензиями, пероральными растворами или суспензиями и водно-масляными эмульсиями, содержащими приемлемые количества соединений или их фармацевтически приемлемых производных. Каждая единичная доза содержит определенное количество терапевтически активного соединения, достаточное для получения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем, средой или растворителем. Примеры единичных дозированных форм включают ампулы и шприцы, и индивидуально упакованные таблетки или капсулы. В некоторых примерах единичные дозы предусмотрены в виде лиофилизированного порошка, который восстанавливают до введения. Например, полипептид FVII может быть предусмотрен в виде лиофилизированного порошка, который восстанавливают подходящим раствором и получают раствор единичной дозы для инъекций. В некоторых вариантах лиофилизированный порошок может содержать полипептид FVII и дополнительные компоненты, такие как соли, такие что восстановление стерильной дистиллированной водой приводит к раствору полипептида FVII в буфере или физиологическом растворе. Единичные дозированные формы могут быть введены частями, или может быть введено сразу несколько единичных дозированных форм. Множественная дозированная форма представляет собой множество одинаковых единичных дозированных форм, упакованных в один контейнер, которые вводят по отдельности единичными дозированными формами.

Примеры множественных дозированных форм включают флаконы, бутылки с таблетками или капсулами или бутылки с пинтами или галлонами жидкости. Таким образом, множественная дозированная форма представляет собой множество единичных дозированных форм, которые упакованы вместе.

2. Введение модифицированных полипептидов FVII.

Полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе (т.е. активные соединения), могут быть применены in vitro, ex vivo или in vivo, т.е. смесь, такая как жидкость тела или другой образец ткани, может быть введена в контакт с полипептидом FVII. Например, при применении соединения ex vivo жидкость тела или образец ткани субъекта может быть введен в контакт с полипептидом FVII, который покрывает трубку или фильтр, например трубку или фильтр аппарата искусственного кровообращения. При применении in vivo активные соединения могут быть введены любым приемлемым путем, например орально, назально, легочно, парентерально, внутривенно, внутрикожно, подкожно, внутрисуставно, интрацистернально, интраокулярно, интравентрикулярно, интратекально, внутримышечно, внутрибрюшинно, интратрахеально или местно, а также любой комбинацией любых двух или более путей в жидкой, полужидкой или твердой форме, подходящей для каждого пути введения. Модифицированные полипептиды FVII можно вводить один или более раз, например два раза, три раза, четыре раза или любое количество раз, если это необходимо для достижения терапевтического эффекта. Множественные введения можно осуществить любым путем или комбинацией путей введения, введения можно проводить каждый час, каждые два часа, каждые три часа, каждые четыре часа и более. Наиболее подходящий путь введения будет варьировать в зависимости от подвергающегося лечению состояния, например от места кровотечения. Как правило, полипептиды FVII вводят внутривенным болюсом при времени введения (инфузии) около 2-5 мин. В других примерах желательный уровень FVII в крови, оцениваемый по плазме крови, может поддерживаться непрерывной инфузией активного вещества. Следует отметить, что решение о том, когда следует прекратить, прервать или изменить лечение для снижения дозы из-за токсичности или дисфункции костного мозга, печени или почек, находится в сфере компетенции лечащего врача. Решение о том, как и когда, напротив, следует усилить лечение, если клинический ответ не является адекватным (исключая токсичные побочные эффекты) находится в сфере компетенции лечащего врача. В других примерах местоположение кровотечения может указывать, что композицию FVII необходимо вводить альтернативным путем. Например, может быть осуществлено местное введение, включая введение в мозг (например, интравентрикулярно), если пациент испытывает кровотечения в этом районе. Аналогично, для лечения кровотечения в суставах может быть использовано местное введение путем введения терапевтических агентов в сустав (т.е. внутрисуставно, внутривенно или подкожно). В других при-

мерах местное введение лекарственного средства на кожу, например, в виде крема, геля или мази или введение в легкие ингаляцией или интратрахеально может быть целесообразно, если кровотечение локализовано в этих областях. Если модифицированные полипептиды FVII включены в композицию в виде депо, композиции длительного действия могут быть введены с помощью имплантации (например, подкожно или внутримышечно) или в виде внутримышечной инъекции. Так, например, терапевтические соединения могут быть включены в композицию с подходящим полимерным или гидрофобным материалом (например, в виде эмульсии в приемлемом масле), или ионообменной смолой, или в виде умеренно растворимых производных, например умеренно растворимых солей.

Композиции, при желании, могут быть предусмотрены в упаковке, в комплекте или дозирующем устройстве, которые могут содержать одну или несколько единичных дозированных форм с активным ингредиентом. Упаковка, например, содержит металлические или пластиковые пленки, например блистерную упаковку. Упаковка или дозирующее устройство может сопровождаться инструкцией для введения. Композиции, содержащие активные вещества, могут быть упакованы в виде изделия, содержащего упаковочный материал, агент по настоящему изобретению и этикетку, в которой указано расстройство, для лечения которого агент предназначен.

3. Введение нуклеиновых кислот, кодирующих модифицированные полипептиды FVII (генная терапия).

Также в настоящем документе предусмотрены композиции молекул нуклеиновых кислот, кодирующих модифицированные полипептиды FVII, и векторов экспрессии, кодирующих модифицированные полипептиды FVII, подходящие для генной терапии. Вместо введения белков могут быть введены нуклеиновые кислоты, например, in vivo, системно или другим путем, или ex vivo, например, путем изъятия клеток, в том числе лимфоцитов, введения в них нуклеиновых кислот и реинтродукции клеток в хозяина или совместимого реципиента. Модифицированные полипептиды FVII могут быть доставлены в клетки и ткани путем экспрессии молекул нуклеиновых кислот. Модифицированные полипептиды FVII могут быть введены как молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие модифицированные полипептиды FVII, включая ex vivo методику и прямую in vivo экспрессию. Нуклеиновые кислоты могут быть доставлены в клетки и ткани любым способом, известным специалистам в данной области. Выделенные последовательности нуклеиновых кислот могут быть включены в векторы для дальнейших манипуляций. В настоящем документе вектор (или плазмида) относится к дискретному элементу, который используется для введения гетерологичной ДНК в клетки для ее экспрессии или репликации. Выбор и использование таких средств находится в пределах компетенции специалистов в данной области.

Способы введения модифицированных полипептидов FVII экспрессией кодирующих молекул нуклеиновой кислоты включают введение рекомбинантных векторов. Вектор может быть сконструирован для сохранения в эписомном состоянии, например, путем включения точки начала репликации, или может быть предназначен для интеграции в хромосому клетки. Модифицированные полипептиды FVII также могут быть использованы в ex vivo терапии при экспрессии генов с использованием невирусных векторов. Например, могут быть созданы клетки, которые экспрессируют модифицированный полипептид FVII, например, путем интеграции кодирующей модифицированный полипептид FVII нуклеиновой кислоты в геном, причем кодирующая последовательность функционально связана с регуляторной последовательностью или помещена под контроль регуляторных последовательностей в геноме. Затем такие клетки могут быть введены локально или системно субъекту, например, пациенту, нуждающемуся в лечении. Для генной терапии могут быть использованы вирусные векторы, включающие, например, аденовирусы, адено-ассоциированные вирусы (AAV), поксвирусы, вирусы герпеса, ретровирусы и другие вирусы. Векторы могут оставаться эписомными или могут интегрироваться в хромосомы субъекта. Модифицированные полипептиды FVII могут быть экспрессированы с помощью вируса, который вводят субъекту, нуждающемуся в лечении. Подходящие для генной терапии вирусные векторы включают аденовирусы, адено-ассоциированные вирусы (AAV), ретровирусы, лентивирусы, вирус осповакцины и другие вирусы, указанные выше. Например, технология экспрессии с помощью аденовируса известна в уровне техники, и получение аденовируса и способы его введения также хорошо известны. Серотипы аденовируса доступны, например, из Американской коллекции типовых культур (ATCC, Rockville, Мэриленд). Аденовирус может быть использован ex vivo, например, при выделении клеток из пациентов, нуждающихся в лечении, и их трансдукции экспрессирующим модифицированный полипептид FVII аденовирусным вектором. После соответствующего периода культивирования трансдуцированные клетки вводят субъекту локально и/или системно. Альтернативно, экспрессирующие модифицированные полипептиды FVII аденовирусные частицы выделяют и смешивают с фармацевтически приемлемым носителем для доставки терапевтически эффективного количества для профилактики, лечения или улучшения симптомов заболевания или состояния у субъекта. Как правило, аденовирусные частицы вводят в дозе от 1 до 10^{14} частиц на 1 кг веса субъекта, как правило, от 10^{6} или 10^{8} частиц до 10^{12} частиц на 1 кг веса субъекта. В некоторых ситуациях предпочтителен источник нуклеиновой кислоты с нацеливающим на определенные клетки агентом, таким как антитело, специфичное к поверхностному белку клеточной мембраны клетки-мишени, или таким как лиганд рецептора клетки-мишени. FVII также может быть нацелен на доставку в специфические типы клеток. Например, аденовирусные векторы, кодирующие поли-

пептиды FVII, могут быть использованы для стабильной экспрессии в неделящихся клетках, таких как клетки печени (Margaritis и др., (2004). J. Clin. Invest 1 13:1025-1031). В другом примере вирусный или невирусный вектор, кодирующий полипептиды FVII, может быть трансдуцирован в выделенные клетки для последующей доставки. Дополнительные типы клеток для экспрессии и доставки FVII включают, но не ограничиваются, фибробласты и эндотелиальные клетки.

Молекулы нуклеиновых кислот могут быть введены в искусственные хромосомы и другие не вирусные векторы. Искусственные хромосомы, такие как ACES (см. Lindenbaum и др., (2004) Nucleic Acid Res. 32 (21):e172) могут быть сконструированы для кодирования и экспрессии изоформы белка. Искусственные хромосомы млекопитающих (MAC) представляют собой средство введения большого количества полезной генетической информации в клетку при автономной репликации и отсутствии интеграции. В отличие от других MAC система экспрессии с помощью искусственных хромосом млекопитающих на основе сателлитной ДНК (ACE) может быть получена de novo в клеточных линиях различных видов и искусственные хромосомы могут быть легко очищены от хромосом клеток хозяина. Очищенные ACE млекопитающих могут быть вновь введены в различные реципиентные клеточные линии, где они стабильно поддерживаются в течение длительного периода в отсутствие селективного давления. С использованием этого подхода в LMTK(-) и CHO клетки были введены один или два целевых гена. Другой способ введения кодирующей модифицированные полипептиды FVII нуклеиновой кислоты представляет собой двухстадийную технологию замены генов в дрожжах, требующей полный геном аденовируса (Ad2; Ketner и др., (1994) PNAS 91: 6186-6190), клонированный в искусственной хромосоме дрожжей (YAC), и плазмиду, содержащую аденовирусные последовательности, нацеленные на конкретной район в клоне YAC, экспрессионную кассету для интересующего гена и положительные и отрицательные селективные маркеры. YAC представляют особый интерес, поскольку они позволяют включать в себя большие гены. Этот подход может быть использован для конструирования аденовирусных векторов, несущих нуклеиновые кислоты, кодирующие любой из описанных модифицированных полипептидов FVII, предназначенных для переноса генов в клетки млекопитающих или переноса в животных.

Нуклеиновые кислоты могут быть инкапсулированы в переносчик, такой как липосому, или включены в клетки, такие как бактериальные клетки, особенно ослабленные бактерии, или введены в вирусный вектор. Например, при использовании липосом для нацеливания и/или для облегчения захвата могут быть использованы белки, которые связываются с белками клеточной мембраны, и белки, связанные с эндоцитозом, например, капсидные белки или их фрагменты, связывающиеся с определенным типом клеток, антитела к белкам, подвергающимся интернализации, и белки, которые определяют внутриклеточную локализацию и увеличивают период полураспада внутри клеток.

В ex vivo и in vivo методах молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие модифицированные полипептиды FVII вводят в клетки, взятые от подходящего донора или от субъекта, подлежащего лечению. Клетки, в которые для терапевтических целей могут быть введены нуклеиновые кислоты, включают, например, любой доступный предпочтительный тип клеток, подходящий для подлежащего лечению заболевания или состояния, включая, но не ограничиваясь, эпителиальные клетки, эндотелиальные клетки, кератиноциты, фибробласты, мышечные клетки, гепатоциты, клетки крови, такие как Т-лимфоциты, В-лимфоциты, моноциты, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы, мегакариоциты, гранулоциты, различные стволовые клетки или клетки-предшественники, включая гемопоэтические стволовые клетки-предшественники или, например, стволовые клетки, полученные из костного мозга, пуповинной крови, периферической крови, печени плода, а также других их источников.

Для лечения ex vivo выделяют клетки донора, совместимого с подлежащим лечению субъектом, или клетки самого подлежащего лечению субъекта, в указанные выделенные клетки вводят нуклеиновые кислоты, и модифицированные клетки вводят субъекту.

Лечение включает прямое введение клеток, например, инкапсулированных в пористые мембраны, которые имплантируют в организм пациента (см., например, патенты США №№ 4892538 и 5283187, каждый из которых приведен здесь в качестве ссылки в полном объеме). Способы, пригодные для in vitro переноса нуклеиновых кислот в клетки млекопитающих, включают использование липосом и катионных липидов (например, DOTMA, DOPE и DC-Choi), электропорацию, микроинъекцию, слияние клеток, использование ДЭАЭ-декстрана и осаждения с фосфатом кальция. Способы доставки ДНК могут быть использованы для экспрессии модифицированных полипептидов FVII in vivo. Такие способы включают доставку нуклеиновых кислот в липосомах и доставку голой ДНК, в том числе местную и системную доставку, например, при использовании электропорации, ультразвука и кальций-фосфатной доставки. Другие способы включают микроинъекцию, слияние клеток, перенос генов в хромосомах, перенос генов в микроклетках и слияние сферопластов.

In vivo экспрессия модифицированных полипептидов FVII может быть связана с экспрессией дополнительных молекул. Например, экспрессии модифицированных полипептидов FVII может быть связана с экспрессией цитотоксического продукта, такого как модифицированный вирус, или полипептид может экспрессироваться в составе цитотоксического вируса. Такие вирусы могут быть ориентированы на конкретный тип клеток, который является мишенью для терапевтического воздействия. Экспрессия модифицированных полипептидов FVII может быть использована для повышения цитотоксичности вируса.

In vivo экспрессия модифицированных полипептидов FVII может включать функциональное связывание кодирующей модифицированный полипептид FVII молекулы нуклеиновой кислоты со специфичной регуляторной последовательностью, такой как специфичный для клеток или тканеспецифичный промотор. Модифицированные полипептиды FVII также могут быть экспрессированы в векторах, которые специфически заражают и/или реплицируются в клетках-мишенях и/или тканях. Для селективной регуляции экспрессии модифицированного полипептида FVII можно использовать индуцибельный промотор. Пример системы регулируемой экспрессии представляет собой доксициклин-индуцибельная система экспрессии генов, которая была использована для регулируемой экспрессии рекомбинантного FVII (Srour и др., (2003) Thromb Haemost 90 (3):398-405). Молекулы нуклеиновой кислоты, такие как голые нуклеиновые кислоты или векторы, искусственные хромосомы, липосомы и другие переносчики, могут быть введены субъекту путем системного введения, локального, местного и других способов введения. При системном введении in vivo молекулы нуклеиновой кислоты или переносчик, содержащий молекулы нуклеиновой кислоты, могут быть нацелены на определенные клетки.

Введение также может быть прямым, таким как введение вектора или клеток, которые обычно нацелены на клетки или ткани. Например, опухолевые клетки и пролиферирующие клетки могут представлять собой клетки-мишени для in vivo экспрессии модифицированных полипептидов FVII. Используемые для in vivo экспрессии модифицированных полипептидов FVII клетки также включают клетки, аутологичные для пациента. Такие клетки могут быть изъяты у пациента, в них могут быть введены нуклеиновые кислоты для экспрессии модифицированных полипептидов FVII, а затем клетки могут быть введены пациенту, например, путем инъекции или пересадки.

H. Терапевтическое применение.

Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть использованы для лечения любых состояний, для которых может применяться рекомбинантный FVII. Как правило, такое лечение усиливает коагуляцию, например, усиливает гемостатический ответ. Модифицированные полипептиды FVII обладают терапевтической активностью отдельно или в комбинации с другими агентами. Модифицированные полипептиды, предусмотренные в настоящем документе, при сохранении терапевтической активности проявляют модифицированные свойства, в частности, повышенную устойчивость к AT-III и увеличенную каталитическую активность. Модифицированные полипептиды, предусмотренные в настоящем документе, также могут обладать повышенной устойчивостью к TFPI, повышенной устойчивостью к ингибиторному действию Zn^{2+}, улучшенными фармакокинетическими свойствами, такими как период полураспада в сыворотке, увеличенным связыванием и/или аффинностью к активированным тромбоцитам, увеличенным связыванием и/или аффинностью к сывороточному альбумину и/или увеличенным связыванием и/или аффинностью к интегрину тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$. Такое изменение свойств, например, может повысить терапевтическую эффективность полипептидов вследствие увеличения коагулянтной активности модифицированных полипептидов FVII. В этом разделе приведены примеры применения и способы введения полипептидов. Описание способов лечения приведено в качестве примера и не ограничивает применение модифицированных полипептидов FVII.

Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть использованы в различных способах лечения, а также диагностики, в которых может быть применен FVII. Такие способы включают, но не ограничиваются, способы лечения физиологических и медицинских состояний, описанных и перечисленные ниже. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут проявлять увеличенную активность in vivo и увеличенный терапевтический эффект по сравнению с FVII дикого типа, например для достижения того же эффекта могут требоваться более низкие дозы, модифицированные полипептиды FVII могут проявлять другие улучшения для введения и лечения, например, может требоваться введение меньших количеств и/или более редкое введение, могут быть уменьшены побочные эффекты и повышен терапевтический эффект. Хотя модифицированные полипептиды FVII могут быть введены в виде зимогена FVII (т.е. в одноцепочечной форме), как правило, предусмотренные здесь модифицированные полипептиды FVII вводят в активированной двухцепочечной форме, например, после самоактивации или активации другими факторами свертывания крови, например, во время очистки. В частности, модифицированные полипептиды FVII предназначены для использования в способах лечения, в которых для лечения используют FVII. Такие способы включают, но не ограничиваются способами лечения заболеваний и расстройств, включающих, но не ограничивающихся нарушениями свертывания крови, гематологическими расстройствами, геморрагическими расстройствами, гемофилиями, такими как гемофилия A, гемофилия B и дефицит фактора VII, и приобретенными заболеваниями крови, такими как приобретенный дефицит фактора VII, вызванный заболеваниями печени. Модифицированные полипептиды FVII также могут быть использованы для лечения других заболеваний и нарушений свертывания крови, включая, но не ограничиваясь тромбоцитопенией (например, связанной с химиотерапией тромбоцитопенией), болезнью Виллебранда, наследственными нарушениями функций тромбоцитов (например, заболеваниями дефицита хранения, такими как синдром Чедиака-Хигаси и синдром Германски-Пудлака, дисфункция тромбоксана A2, тромбастения Гланцманна и синдром Бернар-Сулье), гемолитическим уремическим синдромом, наследственной геморрагической телеангиоэкстазией, также известной как синдром Ренду-Ослера-Вебера, аллергической пурпурой (пур-

пура Шенлейна-Генох) и диссеминированным внутрисосудистым свертыванием.

В некоторых вариантах подвергающиеся лечению полипептидами FVII кровотечения происходят в таких органах как мозг, внутреннее ухо, глаз, печень, легкие, опухолевая ткань, желудочно-кишечный тракт. В других вариантах кровотечение является диффузным, таким как геморрагический гастрит и обильное маточное кровотечение. Пациенты с нарушениями свертываемости крови, например с гемофилией А и В, часто подвергаются риску кровотечения во время операции или травмы. Такие кровотечения могут проявляться в виде острого гемартроза (кровотечения в суставе), хронической гемофильной артропатии, гематом, (например, мышечной, забрюшинной, сублингвальной и заглоточной), гематурии (кровотечение из почечного тракта), кровотечения в центральной нервной системе, желудочно-кишечных кровотечений (например, кровотечения в верхнем пищеварительном тракте) и кровоизлияния в мозг, которые также можно лечить с помощью модифицированных полипептидов FVII. Кроме того, любые кровотечения, связанные с хирургическим вмешательством (например, резекцией печени) или удалением зубов, можно лечить с помощью модифицированных полипептидов FVII. В одном из вариантов, модифицированные полипептиды FVII могут быть использованы для лечения кровотечений у субъекта, вызванных травмой или операцией, или снижением количества или активности тромбоцитов. Примеры способов лечения пациентов, перенесших операцию, включают лечение для предотвращения кровотечения и другие процедуры до, во время или после операции, включая, но не ограничиваясь операцией на сердце, ангиопластикой, операцией на легких, абдоминальной операцией, операцией на позвоночнике, операцией на головном мозге, операцией на сосудах, стоматологической операцией или трансплантацией органов, в том числе трансплантацией костного мозга, сердца, легких, поджелудочной железы или печени. Лечение заболеваний и состояний модифицированными полипептидами FVII может быть осуществлено с помощью любого подходящего способа введения с использованием подходящей композиции, как описано в настоящем документе, включая, но не ограничиваясь инъекцией, легочным, оральным и трансдермальным введением. Лечение обычно осуществляют путем внутривенного болюсного введения. При необходимости конкретная дозировка, продолжительность и протокол лечения могут быть эмпирически определены или экстраполированы. Примеры доз рекомбинантного полипептида и нативного FVII могут быть использованы в качестве отправной точки для определения нужных дозировок. Например, рекомбинантный полипептид FVII (rFVIIa), который был активирован с образованием rFVIIa, Novoseven®, вводили пациентам с гемофилией А или гемофилией В при кровотечении в дозе 90 мкг/кг болюсной инфузией в течение от 2 до 5 мин, достигая эффективного уровня в крови не менее 2 мкг/мл со средним периодом полураспада 2,7 ч. Введение повторяли каждые 2 ч до достижения гемостаза. Модифицированные полипептиды FVII, которые обладают повышенной коагулянтной активностью, вследствие, например, повышенной устойчивости к АТ-III, увеличенной каталитической активностью, повышенной устойчивостью к ингибиторному действию Zn^{2+}, повышенной устойчивостью к TFPI, улучшенных фармакокинетических свойств, таких как увеличенный период полураспада в сыворотке, увеличенного связывания и/или аффинности к активированным тромбоцитам, увеличенного связывания и/или аффинности к сывороточному альбумину и/или увеличенного связывания и/или аффинности к интегрину тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$, могут быть эффективны при уменьшенных дозах и/или уменьшенной частоте введения по сравнению с рекомбинантным FVII. Дозы FVII дикого типа или немодифицированного полипептида FVII могут быть использованы в качестве ориентиров для определения доз модифицированных полипептидов FVII. Такие факторы, как уровень активности и период полураспада модифицированного FVII по сравнению с немодифицированным FVII, могут быть использованы при принятии таких решений. Конкретные дозы и режимы введения могут быть определены эмпирически.

Дозировки и режимы введения могут быть определены, исходя из известных дозировок и режимов, и, при необходимости, могут быть экстраполированы на основе изменений свойств модифицированных полипептидов и/или могут быть определены эмпирически на основе целого ряда факторов. К таким факторам относятся масса тела человека, общее состояния здоровья, возраст, активность конкретного используемого соединения, пол, диета, время введения, скорость выделения, комбинация лекарств, тяжесть и течение заболевания, предрасположение пациента к заболеванию и решение лечащего врача. Активный ингредиент, полипептид, как правило, комбинирован с фармацевтически эффективным носителем. Количество активного ингредиента, которое может быть объединено с носителем для получения единичной дозированной формы или множественной дозированной формы может варьировать в зависимости от принимающего лечение субъекта и способа введения.

Влияние полипептидов FVII на время свертывания крови можно контролировать с помощью любого из анализов коагуляции, известных в уровне техники, включая, но не ограничиваясь полным протромбиновым временем крови (ПВ), активированным частичным тромбопластиновым временем (АЧТВ), активированным временем свертывания (АВС), рекальсифицированным активированным временем свертывания крови или временем свертывания крови Ли-Уайта.

После улучшения состояния пациента, если это необходимо, может быть введена поддерживающая доза соединения или композиции; и дозировка, дозированная форма или частота приема или их сочетание могут быть изменены. В некоторых случаях субъекту может потребоваться долгосрочное прерыви-

стое лечение при повторении симптомов заболевания или на основе запланированных введений. В других случаях дополнительные введения могут быть необходимы в ответ на острую потребность, такую как кровотечение, травма или хирургическое вмешательство.

Ниже приведены некоторые примеры состояний, при которых FVII (вводили в виде FVIIa) был использован в качестве терапевтического агента отдельно или в комбинации с другими агентами.

1. Врожденные нарушения, связанные с кровотечениями.

а. Гемофилия.

Врожденная гемофилия представляет собой рецессивное заболевание крови, при котором наблюдается снижение уровня факторов свертывания в плазме, что приводит к нарушению свертывания и увеличению времени свертывания. Гемофилия А, на долю которой приходится около 85% всех случаев гемофилии, является результатом мутации (мутаций) в гене фактора VIII в Х-хромосоме, что приводит к недостаточности или дисфункции белка FVIII. Гемофилия В вызвана недостаточностью или дисфункцией фактора свертывания FIX, как правило, в результате точечных мутаций или делеции в гене FIX в Х-хромосоме. Заболеваемость гемофилией А в мире составляет примерно 1 случай на 5000 мужчин и заболеваемость гемофилией В - 1 случай на 25000 мужчин. Гемофилия А и В классифицируется на легкую, среднюю и тяжелую гемофилию. Уровень 5-25% нормально функционирующего фактора VIII или IX в плазме крови классифицируют как легкую, 1-5% как умеренную и менее 1% как тяжелую гемофилию. Гемофилия С, часто называемая дефицитом FIX, является относительно мягким и редким заболеванием, затрагивающим приблизительно 1 из 100000 человек и наследующимся по аутосомно-рецессивному типу.

Гемофилии А и В клинически проявляются различными путями. Малые порезы и ссадины не приводят к чрезмерному кровотечению, в отличие от травм и операций. У пациента также будут наблюдаться многочисленные кровотечения в суставах и мышцах и легкие кровоподтеки. Гемартроз или кровотечение в суставах является одним из серьезных осложнений при гемофилии и может происходить спонтанно или в ответ на травму. Чаще всего страдают блоковидные суставы, такие как колено, локоть и лодыжка. Бедреный и плечевой суставы страдают гораздо реже, так как вокруг шарового и шарнирного сустава находится больше мышц, что больше защищает их от травмы. Кровотечение может привести к тяжелой острой боли, ограничить движение и привести к вторичным осложнениям, включая синовиальную гипертрофию. Кроме того, повторяющиеся кровоизлияния в суставы могут вызвать хронический синовит, который может вызвать повреждения суставов, разрушение синовиальной оболочки, хрящей и кости. Субъекты с гемофилией также страдают опасными для жизни кровотечениями, например внутричерепными кровоизлияниями и кровотечениями в центральной нервной системе. Внутричерепные кровоизлияния происходят приблизительно у 10% пациентов с гемофилией, что приводит к 30% смертности. Напротив, гемофилия С является более мягкой. Спонтанные кровотечения редки, и кровоизлияния в суставы, мягкие ткани и мышцы также происходят редко. Кровотечение обычно лечат переливанием свежезамороженной плазмы (СЗП), заместительной терапией FXI, или, для местного лечения, например, лечения внешних ран или при удалении зубов, фибриновым клеем.

Наиболее распространенным способом лечения гемофилии А или В является заместительная терапия, при которой пациенту вводят FVIII или FIX. Коммерчески доступны композиции с очищенными из плазмы или рекомбинантными продуктами, рекомбинантные белки в настоящее время являются самым популярным лекарственным средством у ранее не леченных пациентов. Хотя эти способы могут быть очень успешными, если у пациента образуются ингибиторы к вводимым фактору VIII или фактору IX, то возникают осложнения. Ингибиторы представляют собой антитела IgG, в основном подкласса IgG4, которые взаимодействуют с FVIII или FIX и ингибируют прокоагулянтную активность. Ингибиторы присутствуют приблизительно у 1 из 5 больных с тяжелой формой гемофилии А. У большинства субъектов ингибиторы появляются вскоре после первой инфузии фактора VIII, которая зачастую происходит в раннем детстве, хотя субъекты вырабатывают ингибиторы позже. Ингибиторы также присутствуют приблизительно у 1 из 15 человек с легкой или умеренной гемофилией А. Ингибиторы обычно вырабатываются во взрослом возрасте и разрушают не только введенный экзогенный фактор VIII, но и эндогенный фактор VIII. В результате этого легкая и средняя гемофилии становятся тяжелой гемофилией. Клинически пациентов с гемофилией, вырабатывающих ингибиторы, делят на пациентов с высокой и низкой реакцией в соответствии с силой их анамнестического ответа при повторном применении FVIII. Ингибиторы присутствуют приблизительно у 1 из 100 пациентов с гемофилией В. У большинства субъектов ингибиторы появляются после первых инфузий фактора IX и могут сопровождаться аллергическими реакциями.

Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть использованы для лечения больных гемофилией, в частности больных гемофилией с ингибиторами. Рекомбинантный продукт FVIIa (Novoseven, "Ново Нордиск") был одобрен и лицензирован для лечения кровотечений при гемофилии А и В у пациентов с ингибиторами фактора VIII или FIX и для профилактики кровотечений при хирургических вмешательствах или инвазивных процедурах у пациентов с гемофилией А или В с ингибиторами фактора VIII или FIX. Лечение rFVIIa усиливает образование тромбина в обход потребности в FVIIIa и/или FIXa. Коагуляция начинается в месте повреждения в результате взаимодействия rFVIIa с ТФ, что приводит к начальной активации FX, образованию тромбина и активации тромбоцитов. Полная коагуляция с помощью rFVIIa может быть достигнута по ТФ-зависимому и ТФ-

независимому механизму, в котором часть образовавшегося тромбина может быть образована фактором FX, напрямую активированным rFVIIa на активированных тромбоцитах, который сам связывает активированные тромбоциты за счет низкоаффинных взаимодействий с фосфолипидами мембран.

Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть использованы для лечения гемофилии, в том числе для лечения кровотечений и профилактики кровотечений при хирургических вмешательствах или инвазивных процедурах. Модифицированные полипептиды FVII по настоящему документу могут обладать повышенной устойчивостью к AT-III, увеличенной каталитической активностью, повышенной устойчивостью к ингибиторному действию Zn^{2+}, повышенной устойчивостью к TFPI, улучшенными фармакокинетическими свойствами, такими как период полураспада в сыворотке, увеличенным связыванием и/или аффинностью к активированным тромбоцитам, увеличенным связыванием и/или аффинностью к сывороточному альбумину и/или увеличенным связыванием и/или аффинностью к интегрину тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$. Поэтому полипептиды FVII проявляют повышенную коагулянтную активность в присутствии ТФ (например, вследствие повышения устойчивости к TFPI) и/или в отсутствие ТФ (например, вследствие увеличения связывания и/или аффинности к активированным тромбоцитам). Таким образом, модифицированные полипептиды FVII могут быть использованы для более активной терапии гемофилии. Примеры улучшений при лечении с использованием модифицированных полипептидов FVII включают, но не ограничиваются, например, более низкие дозы, меньшее и/или более редкое введение, уменьшение побочных эффектов и повышение терапевтического эффекта.

Модифицированные полипептиды FVII, обычно, вводят в виде активированных полипептидов FVII (FVIIa). Модифицированные полипептиды FVII могут быть проверены на терапевтическую эффективность, например, с использованием моделей на животных. Например, модифицированные полипептиды FVII можно применять к мышам с индуцированной антителами гемофилией или испытывать на любой другой известной модели гемофилии. Для оценки последствий модификации полипептидов FVII можно оценивать прогрессирование симптомов заболевания и фенотипы. Модифицированные полипептиды FVII также могут быть введены субъектам при клинических исследованиях для оценки эффективности in vivo по сравнению с контролем плацебо и/или введением немодифицированных FVII.

b. Дефицит фактора FVII.

Дефицит фактора VII представляет собой аутосомно-рецессивное нарушения свертывания крови, которое встречается приблизительно у 1 из 500000 человек. Дефицит FVII может проявляться в клинически легкой, средней или тяжелой форме, причем мягкая и умеренная недостаточность характеризуется повышенной кровоточивостью при операциях и травмах. Пациенты с тяжелой недостаточностью FVII (менее 1% активности FVII) проявляют аналогичные гемофилии симптомы. Например, FVII-дефицитные субъекты склонны к кровоизлияниям в суставы, спонтанным кровотечениям из носа, желудочно-кишечным кровотечениям, кровотечениям из мочевых путей. Также наблюдаются внутримозговые кровоизлияния и кровотечения в мышцах, в то время как женщины могут столкнуться с тяжелой менорраги-ей (тяжелые менструальные кровотечения). Лечение может быть осуществлено путем заместительной терапии. Рекомбинантный продукт FVIIa (Novoseven®, "Ново Нордиск") был одобрен и лицензирован для лечения кровотечений у больных с врожденным дефицитом FVII и для профилактики кровотечений при хирургических вмешательствах или инвазивных процедурах у пациентов с врожденным дефицитом FVII. Следовательно, предусмотренные здесь модифицированные полипептиды FVII могут быть использованы аналогичным образом. Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть использованы для лечения кровотечений и профилактики кровотечений при хирургических вмешательствах или инвазивных процедурах у FVII-дефицитных пациентов. Например, новорожденному пациенту с тяжелой недостаточностью FVII с внутричерепным кровоизлиянием для стимулирования коагуляции и поддержания гемостаза могут быть введены модифицированные полипептиды FVII внутривенным болюсом. Обычно модифицированные полипептиды FVII вводят в виде активированных полипептидов FVII (FVIIa).

c. Другое.

Другие нарушения свертываемости крови можно лечить с помощью полипептидов FVII, предусмотренных в настоящем документе для содействия коагуляции. Врожденные недостатки факторов V и X также приводят к увеличенному времени свертывания крови и могут подвергаться лечению введением терапевтических доз FVII. Например, пациенту с дефицитом фактора X для остановки кровотечения, связанного со спленэктомией, может быть введен rFVIIa (Boggio и др., (2001) Br. J. Haematol. 112:1074-1075). Спонтанные и вызванные операцией кровотечения при болезни Виллебранда (БВ) также можно лечить с помощью предусмотренных в настоящем документе модифицированных полипептидов FVII. БВ является нарушением свертывания крови, вызванным дефектом или дефицитом белка свертывания крови, фактора Виллебранда (vWF), которое, по оценкам, встречается у 1-2% населения. У пациентов с болезнью Виллебранда легко появляются гематомы, имеют место периодические кровотечения из носа, кровотечения после удаления зубов, тонзиллэктомии или других операций, у женщин-пациентов могут увеличиваться менструальные кровотечения. Модифицированные полипептиды FVII могут быть исполь-

зованы для облегчения спонтанных и связанных с операцией кровотечений у пациентов с БВ (von Depka и др., (2006) Blood Coagul Fibrin 17:311-316). Другие связанные с тромбоцитами нарушения свертывания крови, такие как, например, тромбастения Гланцманна и синдром Германски-Пудлака, также связаны со снижением эндогенной коагулянтной активности. Случаи спонтанного или связанного с операцией кровотечения у пациентов со связанными с тромбоцитами нарушения свертывания крови также можно лечить с помощью терапевтических доз модифицированных полипептидов FVII. Например, пациенту с тромбастенией Гланцманна, перенесшему операцию, для предотвращения большой потери крови можно вводить модифицированные полипептиды FVII до, во время и/или после операции (Van Buuren и др., (2002) Dig Dis Sci 47:2134-2136). Обычно, модифицированные полипептиды FVII вводят в виде активированных полипептидов FVII (FVIIa).

2. Приобретенные нарушения свертываемости крови.

a. Тромбоцитопения вследствие химиотерапии.

Нарушения свертываемости крови также могут быть приобретенными, а не врожденными. Например, химиотерапия при лейкемии и других раковых заболеваниях может привести к тромбоцитопении. Тромбоцитопения, вероятно, развивается из-за потери тромбоцитов в костном мозге больных, получающих химиотерапию, и обычно наступает через 6-10 дней после лечения. Лечение приобретенной тромбоцитопении, как правило, состоит в переливании тромбоцитов, эритроцитов или плазмы, что служит для предотвращения любых ненормальных спонтанных кровотечений, которые могут быть результатом дефицита тромбоцитов. Кровотечения у пациентов с вызванной химиотерапией тромбоцитопенией или у пациентов с любой другой приобретенной или врожденной тромбоцитопенией также можно лечить введением терапевтических количеств модифицированных полипептидов FVII, предусмотренных в настоящем документе. Например, пациенту с тромбоцитопенией при неконтролируемом кровотечении, например, в желудочно-кишечном тракте для остановки кровотечения может быть введен внутривенный болюс терапевтического количества полипептида FVII (Gerotziafas и др., (2002) Am.. J. Hematol. 69: 219-222). Обычно, модифицированные полипептиды FVII вводят в виде активированных полипептидов FVII (FVIIa).

b. Другие коагулопатии.

Другие приобретенные коагулопатии также можно лечить с помощью модифицированных полипептидов FVII, предусмотренных в настоящем документе. Коагулопатии могут быть следствием состояний, включающих, но не ограничивающихся молниеносной печеночной недостаточностью (FHF, например, вызванной гепатотоксичными лекарствами, токсинами, нарушениями метаболизма, инфекционными заболеваниями и ишемией), другими заболеваниями печени, включая цирроз и заболевания, связанные с болезнью Вильсона, дефицитом витамина K (например, вызванным лечением антибиотиками или диетой), гемолитическим уремическим синдромом, тромботической тромбоцитопенией (ТТЦ) и диссеминированным внутрисосудистым свертыванием (ДВС). Обычные методы лечения, как правило, включают переливание плазмы, красных кровяных телец (эритроцитов) или тромбоцитов, но могут быть неудачными. В одном из вариантов модифицированные полипептиды FVII для предотвращения кровотечения можно вводить пациенту с FHF, перенесшему инвазивную процедуру. Обычное лечение свежезамороженной плазмой (СЗП) часто не приносит эффекта и может потребовать большого количества плазмы, что приведет к перегрузке и анасарке (генерализованной инфильтрации подкожной соединительной ткани отечной жидкостью). Лечение терапевтическими количествами модифицированных полипептидов FVII внутривенным болюсом во время, до и/или после хирургического вмешательства, такого как, например, биопсия печени или трансплантация печени, может предотвратить кровотечение и установить гемостаз у больных с FHF. Для определения эффективности лечения у пациента может контролироваться ПВ крови (Shami и др., (2003) Liver Transpl 9:138-143). В другом варианте FVII можно вводить пациенту с тяжелым кровотечением при коагулопатии, таким как, например, тяжелое внутрибрюшное кровотечение после кесарева сечения, связанное с нарушением функции печени и ДВС, которое не поддается лечению обычными переливаниями (Moscardo и др., (2001) Br. J. Haematol. 113: 174-176). Кроме того, модифицированные полипептиды FVII могут быть использованы для лечения коагулопатии у новорожденных и детей. В конкретном варианте новорожденные и дети не реагируют на традиционное лечение, такое как вливание красных кровяных телец и тромбоцитов. Например, новорожденным с тяжелым легочным кровотечением с увеличенным ПВ, которые не отвечают на переливание красных кровяных телец и тромбоцитов, для уменьшения ПВ и установления гемостаза могут быть введены модифицированные полипептиды FVII (Olomu и др., (2002) J. Perinatol 22:672-674). Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, проявляют повышенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированными полипептидами FVII и поэтому могут быть введены, например, в более низких дозах, реже и с меньшим количеством побочных эффектов. Обычно модифицированные полипептиды FVII вводят в виде активированных полипептидов FVII (FVIIa).

c. Кровотечения при трансплантации.

Тяжелые кровотечения после трансплантации костного мозга (ТКМ) и трансплантации стволовых клеток (ТСК) являются относительно распространенными и опасными для жизни осложнениями, связанными с этими процедурами, возникающими из-за уменьшения количества тромбоцитов. Например, диф-

фузное альвеолярное кровотечение (ДАГ) является легочным осложнением ТКМ, затрагивающим 1-21% пациентов при трансплантации, при этом смертность достигает 60-100%. Обычное лечение таких кровотечений включает лечение кортикостероидами и переливание плазмы, тромбоцитов и/или эритроцитов, хотя такое лечение является в значительной степени неудачным с общей смертностью примерно 50% (Hicks и др., (2002) Bone Marrow Transpl 30:975-978). Для лечения ДАГ и установления гемостаза может быть выполнено введение FVII внутривенным болюсом при одновременном лечении кортикостероидами и/или инфузии тромбоцитов или без них (Hicks и др., (2002) Bone Marrow Transpl 30:975-978). Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, проявляют повышенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированными полипептидами FVII и поэтому могут быть введены, например, в более низких дозах, реже, при более коротком сроке лечения и с меньшим количеством побочных реакций при той же биологической активности и эффективности. Обычно модифицированные полипептиды FVII вводят в виде активированных полипептидов FVII (FVIIa).

d. Кровотечения, вызванные антикоагулянтной терапией.

У пациентов, проходящих антикоагулянтную терапию для лечения таких состояний, как тромбоэмболия, могут проявляться кровотечения при остром введении антикоагулянтов, таких как варфарин, гепарин и фондапаринукс, или развиваться геморрагические нарушения в результате долгосрочного использования таких способов лечения. Лечение кровотечений обычно включает введение прокоагулянтов, таких как витамин K, плазмы, экзогенного FIX и протаминов для нейтрализации гепарина. Для нейтрализации действия антикоагулянтов, повышения ПВ, АЧТВ, и/или других маркеров коагуляции и установления гемостаза также может быть введен экзогенный FVII (Deveras и др., (2002) Ann Inten Med 137:884-888). Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть использованы в терапии для остановки кровотечений у пациентов с приобретенными в связи с антикоагулянтой терапией нарушениями свертываемости крови. Обычно модифицированные полипептиды FVII вводят в виде активированных полипептидов FVII (FVIIa).

e. Приобретенная гемофилия.

Ингибиторы фактора VIII могут спонтанно образоваться у здоровых субъектов, что приводит к состоянию, известному как "приобретенная гемофилия". Приобретенная гемофилия представляет собой редкое состояние с ежегодной встречаемостью 0,2-1,0 случаев на миллион населения. Аутоантитела в основном представляют собой IgG4 антитела, которые при связывании с FVIII ингибируют его активность, препятствуя расщеплению тромбина, взаимодействию с фактором Виллебранда и/или связыванию фосфолипидов. Это приводит к опасным для жизни кровоизлияниям у приблизительно 87% пациентов. Обычные места кровотечения включают кожу, слизистые оболочки, мышцы и забрюшинное пространство в отличие от пациентов с наследственной гемофилией, у которых кровотечения локализованы преимущественно в суставах и мышцах. Приобретенную гемофилию можно лечить с помощью концентрата активированного протромбинового комплекса или рекомбинантного активированного фактора VII (Novoseven®, "Ново Нордиск"). Модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, проявляют повышенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированными полипептидами FVI, и поэтому могут быть введены, например, в более низких дозах, реже, при более коротком сроке лечения и с меньшим количеством побочных реакций при той же биологической активности и эффективности. Обычно модифицированные полипептиды FVII вводят в виде активированных полипептидов FVII (FVIIa).

3. Кровотечение при травмах и хирургическом вмешательстве.

Полипептиды FVII могут быть использованы в качестве терапии для лечения кровотечений, связанных с периоперационной и травматической потерей крови у субъектов с нормальной системой коагуляции. Например, полипептиды FVII можно вводить пациенту для содействия свертыванию крови и уменьшения потерь, связанных с операцией и, кроме того, для уменьшения потребности в переливании крови. В одном из вариантов, полипептиды FVII могут быть введены субъекту, подвергающемуся позадилонной простатэктомии. Позадилонная простатэктомия часто сопровождается большой потерей крови и последующей необходимостью в переливании. Субъектам, подвергающимся такой или подобной операции, для уменьшения периоперационной кровопотери путем повышения свертывания в месте операции можно ввести внутривенный болюс с терапевтическим количеством FVII на раннем этапе операции. Достигнутое уменьшение потери крови устраняет необходимость в переливании крови у этих больных (Friedrich и др., (2003) Lancet 361: 201-205). Полипептиды FVII могут быть введены пациентам с нормальной коагуляцией для достижения быстрого гемостаза и предотвращения потери крови при других видах хирургии. Не ограничивающие примеры хирургических процедур, при которых для уменьшения периоперационного кровотечения может быть введен FVII, как правило, в активированной форме (т.е. FVIIa), включают, но не ограничиваются, операции на сердечных клапанах (Al Douri и др., (2000), Blood Coag Fibrinol 11: 121-127), замену аортального клапана (Kastrup и др., (2002) Ann Thorac Surg 74:910-912), резекцию периодической гемангиоперицитомы (Gerlach и др., (2002). J. Neurosurg 96:946-948), резекцию рака груди (Sajdak и др., (2002). Eur. J. Gynaecol Oncol. 23: 325-326) и операциями на двенадцатиперстной кишке (Vlot и др., (2000) Am. J. Med. 108:421-423). Лечение FVII может способствовать установлению гемостаза в месте операции и уменьшить или предотвратить потерю крови, тем самым умень-

шая или упраздняя необходимость переливания крови. Предусмотренные здесь модифицированные полипептиды FVII проявляют повышенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII и поэтому могут быть введены, например, в более низких дозах, реже и с меньшим количеством побочных реакций.

Обычно модифицированные полипептиды FVII вводят в виде активированных полипептидов FVII (FVIIa).

Полипептиды фактора VII также могут быть использованы для содействия коагуляции и предотвращения потери крови у пациентов с травмами. Травма определяется как повреждение живой ткани внешним агентом и является четвертой по значимости причиной смерти в Соединенных Штатах. Травмы классифицируют на тупую травму (приводит к внутреннему сжатию, повреждению органов и внутреннему кровотечению) и проникающую травму (является следствием проникновения агента в тело и уничтожения тканей, сосудов и органов, приводит к наружному кровотечению). Травма может быть вызвана несколькими событиями, включая, но не ограничиваясь дорожно-транспортными происшествиями (причинение тупой и/или проникающей травмы), огнестрельными ранениями (причинение проникающее травмы), колющими ранениями (причинение проникающей травмы), несчастными случаями при работе с механизмами (причинение проникающей и/или тупой травмы) и падением со значительной высоты (причинение проникающей и/или тупой травмы). Неконтролируемое кровотечение, возникшее вследствие травмы, ответственно за большую часть связанных с травмой смертельных случаев. Диффузная коагулопатия является относительно частым осложнением, связанным с травмой, встречающимся у 25-36% пациентов с травмой. Коагулопатия может развиваться вскоре после травмы в результате различных факторов, таких как разведение и потребление факторов свертывания крови и тромбоцитов, фибринолиз, ацидоз и гипотермия. Обычное лечение включает заместительную терапию при переливании свежезамороженной плазмы (СЗП), тромбоцитов, эритроцитов и/или криопреципитата, коррекцию ацидоза и лечения гипотермии. Эти меры часто являются недостаточными для остановки кровотечения и предотвращения смертельного исхода. Лечение введением терапевтического количества FVII может способствовать коагуляции и уменьшить потерю крови у пациента с травмой. Например, пациенту с огнестрельным ранением и большой кровопотерей, в дополнение к хирургическому вмешательству для контроля коагулопатии и кровотечения может быть введен FVII (Kenet и др., (1999) Lancet 354:1879). Коагулянтная терапия FVII может эффективно уменьшить потерю крови и кровотечение у пациентов с тупой и проникающей травмой (Rizoli и др., (2006) Crit Care 10:R178). Предусмотренные здесь модифицированные полипептиды FVII проявляют повышенную коагулянтную активность по сравнению с немодифицированным полипептидом FVII и поэтому могут быть введены, например, в более низких дозах, реже и с меньшим количеством побочных реакций. Обычно модифицированные полипептиды FVII вводят в виде активированных полипептидов FVII (FVIIa).

I. Комбинированная терапия.

Любые модифицированные полипептиды FVII, описанные здесь, могут быть введены в комбинации с другим терапевтическим агентом или процедурой одновременно, периодически или последовательно, где агент или процедура включает, но не ограничивается другим биологическим агентом, низкомолекулярным соединением и хирургией. Для любого заболевания или состояния, включая все приведенные в качестве примеров выше заболевания и состояния, для которых FVII (в том числе FVIIa и rFVIIa) показан или был использован и для которых доступны другие агенты и лечение, FVII может быть использован в комбинации. Следовательно, модифицированные полипептиды FVII, предусмотренные в настоящем документе, могут быть использованы аналогично. В зависимости от заболевания или состояния, подлежащего лечению, примеры комбинаций включают, но не ограничиваются комбинациями с другими очищенными из плазмы или рекомбинантными факторами свертывания, прокоагулянтами, такими как витамин K, производные витамина K и ингибиторы белка C, плазмой, тромбоцитами, эритроцитами и кортикостероидами.

J. Изделия и комплекты.

Модифицированные полипептиды FVII или нуклеиновые кислоты, кодирующие модифицированные полипептиды FVII, их производные или их биологически активные части могут быть упакованы в виде изделия, содержащего упаковочный материал, фармацевтическую композицию, которая является эффективной для лечения заболевания или нарушения свертывания крови, и этикетку, которая указывает, что модифицированные полипептиды FVII или молекулы нуклеиновой кислоты могут использоваться для лечения заболевания или нарушения свертывания крови. В настоящем документе предусмотрены изделия, содержащие упаковочный материал. Упаковочные материалы, используемые для упаковки фармацевтических препаратов, хорошо известны специалистам в данной области. См., например, патенты США №№ 5323907, 5052558 и 5033352, каждый из которых включен здесь в полном объеме. Примеры фармацевтических упаковочных материалов включают, но не ограничиваются блистерной упаковкой, бутылкой, тюбиком, ингалятором, насосом, пакетом, флаконом, контейнером, шприцем и любым упаковочным материалом, подходящим для выбранной композиции, способа введения и лечения. Широкий спектр предусмотренных здесь рецептур и композиций с соединениями по изобретению предназначен для разнообразных методов лечения любого заболевания или нарушения свертывания крови.

Модифицированные полипептиды FVII и молекулы нуклеиновых кислот также могут быть предусмотрены в виде комплектов. Комплекты могут включать фармацевтическую композицию, описанную здесь, и устройство для введения. Например, модифицированные полипептиды FVII могут поставляться с устройством для введения, таким как шприц, ингалятор, дозировочный колпачок, пипетка или аппликатор. Комплект, при необходимости, может включать инструкции для применения с указанием дозы, режима дозирования и инструкции по способу введения. Комплекты также могут включать фармацевтическую композицию, описанную здесь, и устройство для диагностики. Например, такие комплекты могут включать устройство для измерения концентрации, количества или активности FVII или регулируемой FVII системы у субъекта.

Следующие примеры приведены в иллюстративных целях и не предназначены для ограничения объема изобретения.

K. Примеры.

Пример 1. Клонирование и экспрессия FVII.

A. Клонирование FVII.

Нуклеотидные последовательности, кодирующие полипептид предшественник изоформы человеческого FVII из 466 аминокислот (P08709, приведен в SEQ ID NO: 1), клонированы в вектор экспрессии млекопитающих pCMV Script (Stratagene; SEQ ID NO: 99), который содержит промотор цитомегаловируса (ЦМВ). Олигонуклеотиды CBO-125 (SEQ ID NO 100) и CBO-126 (SEQ ID NO: 101) были использованы в качестве прямого и обратного праймеров, соответственно, для амплификации последовательности FVII с помощью ПЦР с использованием кДНК человеческого FVII (Invitrogen) в качестве матрицы. Праймер CBO-125 содержал сайт рестрикции BamHI (выделен жирным шрифтом), последовательность Козака (двойное подчеркивание) и 18 нуклеотидов, гомологичных 5'-концу последовательности кДНК FVII (подчеркнуты), включая стартовый кодон ATG. Праймер CBO-126 содержал сайт рестрикции EcoRI (выделен жирным шрифтом), стоп-кодон (двойное подчеркивание) и 21 нуклеотид, гомологичные 3'-концу последовательности кДНК FVII (подчеркнут).

CBO-125 прямой праймер 5'gcatcatgacgtgacggatccgccaccatggtctcccaggccctc3'

CBO-126 обратный праймер 5'gatcgtacgatacgtgaattcctagggaaatggggctcgcaggag3'

Была использована стандартная реакция ПЦР и условия термоциклирования в сочетании с комплектом для ПЦР KoD HiFi PCR kit (EMD Biosciences) в соответствии с рекомендациями производителя. ПЦР-продукт расщепляли ферментами рестрикции BamHI и EcoRI и лигировали по сайтам рестрикции BamHI и EcoRI в pCMV Script вектор с использованием стандартных молекулярных методик. Вектором была трансформирована Escherichia coli. Были выращены выбранные колонии и были получены бактериальные клетки для очистки плазмид с помощью обычных методов молекулярной биологии.

B. Получение вариантов FVII.

Варианты FVII были получены с помощью комплекта для сайт-направленного мутагенеза QuikChange II XL Site-Directed Mutagenesis kit (Stratagene) в соответствии с инструкциями производителя с использованием специально разработанных олигонуклеотидов, которые служили в качестве праймеров для включения конкретных мутаций во вновь синтезированные молекулы ДНК. Метод QuikChange предполагает линейную амплификацию матрицы ДНК с помощью высокоточной ДНК-полимеразы PfuUltra. Комплементарные праймеры, включающие желаемые мутации, удлинились в процессе реакции с использованием очищенного двухцепочечного суперспирального pCMV Script вектора, содержащего клонированную кДНК FVII в качестве матрицы. Удлинение праймеров привело к включению желаемой мутации во вновь синтезированные цепи, что привело к мутированной плазмиде с расположенными уступом никами. После амплификации нуклеиновые кислоты обрабатывали DpnI, которая расщепляла Dam-метилированные родительские нити полученного в E. coli pCMV Script вектора. Это привело к "отбору" новосинтезированных мутированных плазмид, которые не были метилированы. Векторной ДНК, содержащей желаемую мутацию (мутации), трансформировали ультракомпетентные клетки E.coli XL1O-Gold, в которых бактериальная лигаза подвергла ники репарации, что позволило произойти нормальной репликации. В табл. 13 ниже приведены полученные варианты FVII.

Были получены варианты FVII, в которых в различные районы полипептида FVII была вставлена связывающая интегрин тромбоцитов $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность. В полипептид вставляли одну из трех различных связывающих интегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательностей: SFGRGDIRNV (SEQ ID NO: 110); CSFGRGDIRNVC (SEQ ID NO: 111) или GGGSCSFGRGDIRNVC (SEQ ID NO: 112). Связывающую интегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$ последовательность вставляли в C-конец полипептида FVII после аминокислотного остатка P406 по нумерации зрелого FVII или последовательность вставляли, удаляя и заменяя аминокислотные остатки FVII с S103 до S111, с H115 до S126 или с T127 до P134 по нумерации зрелого FVII. Также были получены другие варианты FVII, в которых была вставлена связывающая сывороточный альбумин последовательность. Эти варианты FVII содержали одну из семи различных связывающих сывороточный альбумин последовательностей: QRLMEDICLPRWGCLWEDDF (SEQ ID NO: 103), IEDICLPRWGCLWE (SEQ ID NO: 104), DICLPRWGCLWED (SEQ ID NO: 105), IEDICLPRWGCLW (SEQ ID NO: 106), GGGSIEDICLPRWGCLW (SEQ ID NO: 107), DICLPRWGCLWED (SEQ ID NO: 108) или

GGGSDICLPRWGCLWED (SEQ ID NO: 109).

Связывающую сывороточный альбумин последовательность вставляли в С-конец полипептида FVII после аминокислотного остатка P406 по нумерации зрелого FVII или последовательность вставляли, удаляя и заменяя аминокислотные остатки FVII с S103 до S111, с H115 до S126 или с T128 до P134 по нумерации зрелого FVII.

Варианты FVII с "заменой Gla из FIX" (т.е. полипептиды FVII, в которых эндогенный домен Gla был заменен на домен Gla из FIX) содержат аминокислотные остатки с Y1 до Y45 из SEQ ID NO: 83 на N-конце. В некоторых примерах, варианты с "заменой Gla из FIX" содержат одну или несколько замен аминокислот в домене Gla из FIX. Мутации, которые находятся в домене Gla из FIX, приведены в фигурных скобках и указаны с использованием аминокислотных позиций, соответствующих аминокислотным позициям в зрелом полипептиде FIX дикого типа, или в домене Gla дикого типа из FIX, приведенном в SEQ ID NO: 83. Например, {замена Gla из FIX/M19K} означает, что модифицированный полипептид FVII содержит гетерологичный Gla домен из FIX, в которой метионин в положении 19 домена Gla из FIX, приведенном в SEQ ID NO: 83, заменен на лизин. В табл. 13 ниже приведены аминокислотные остатки, по которым в полипептид FVII тромбоцитов вставлены связывающие интегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$ или сывороточный альбумин последовательности, и последовательности аминокислот связывающих последовательностей. Например, H115S126удаление/вставкад QRLMEDICLPRWGCLWEDDF означает, что аминокислотные остатки с H115 до S126 были удалены и заменены связывающей сывороточный альбумин последовательностью QRLMEDICLPRWGCLWEDDF (SEQ ID NO: 103).

Таблица 13

Варианты фактора VII

Вариант (по нумерации зрелого FVII)	Вариант (по нумерации химотрипсина)	SEQ ID NO полипептида FVII
Дикий тип	Дикий тип	3
Q286N	Q143N	113
Q286E	Q143E	114
Q286D	Q143D	115
Q286S	Q143S	116
Q286T	Q143T	117
Q286R	Q143R	118
Q286K	Q143K	119
Q286A	Q143A	120
Q286V	Q143V	121
Q286M	Q143M	122
Q286L	Q143L	123
Q286Y	Q143Y	124
Замена Gla FIX/Q286R	Замена Gla FIX/Q143R	131
H257A/Q286R	H117A/Q143R	132
S222A/Q286R	S82A/Q143R	133
S222A/H257A/Q286R	S82A/H117A/Q143R	134
Замена Gla FIX/ S222A/Q286R	Замена Gla FIX/S82A/Q143R	135
Замена Gla FIX/H257A/Q286R	Замена Gla FIX/H117A/Q143R	136
Замена Gla FIX /S222A/H257A/ Q286R	Замена Gla FIX /S82A/H117A/ Q143R	137
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	138
Q286R/M298Q/K341Q	K192Q/Q143R/M156Q	139
K199E/Q286R/M298Q	K60cE/Q143R/M156Q	140
Замена Gla FIX/Q286R/M298Q	Замена Gla FIX/Q143R/M156Q	141
Q286R/Q366V	Q143R/Q217V	142
Q286R/A292N/A294S/Q366V	Q143R/A150N/A152S/Q217V	143
A175S/Q286R/Q366V	A39S/Q143R/Q217V	144
S222A/Q286R/Q366V	S82A/Q143R/Q217V	145
H257S/Q286R	H117S/Q143R	146
H257S/Q286R/Q366V	H117S/Q143R/Q217V	147
S222A/H257A/Q286R/Q366V	S82A/H117A/Q143R/Q217V	148
Q286R/H373A	Q143R/H224A	149
S222A/H257A/Q286R/M298Q	S82A/H117A/Q143R/M156Q	150
V158D/E296V/M298Q	V158D/E296V/M298Q	158

Вариант (по нумерации зрелого FVII)	Вариант (по нумерации химотрипсина)	SEQ ID NO полипептида FVII
Q286R/K341D	Q143R/K192D	151
Q286R/Q366D	Q143R/Q217D	152
Q286R/Q366N	Q143R/Q217N	153
Q286R/M298Q/Q366D	Q143R/M156Q/Q217D	154
Q286R/M298Q/Q366N	Q143R/M156Q/Q217N	155
Q286R/H373F	Q143R/H224F	156
Q286R/M298Q/H373F	Q143R/M156Q/H224F	157
T239S	T99S	159
T239N	T99N	160
T239Q	T99Q	161
T239V	T99V	162
T239L	T99L	163
T239H	T99H	164
T239I	T99I	165
P321K	P170iK	166
P321E	P170iE	167
P321Y	P170iY	168
P321S	P170iS	169
Q366D	Q217D	170
Q366E	Q217E	171
Q366N	Q217N	172
Q366T	Q217T	173
Q366S	Q217S	174
Q366V	Q217V	175
Q366I	Q217I	176
Q366L	Q217L	177
Q366M	Q217M	178
H373D	H224D	179
H373E	H224E	180
H373S	H224S	181
H373F	H224F	182
H373A	H224A	183
Q366D/H373E	Q217D/H224E	184
Q366V/H373V	Q217V/H224V	185
Q366V/H373L	Q217V/H224L	186
Q366V/H373I	Q217V/H224I	187
K161S	K24S	188
K161A	K24A	189
K161V	K24V	190
H216S	H76S	191
H216A	H76A	192
H216K	H76K	193
H216R	H76R	194
S222A	S82A	195
S222K	S82K	196
S222V	S82V	197
S222D	S82D	200
S222N	S82N	198
S222E	S82E	199
H257A	H117A	201
H257S	H117S	202
S222K/H257A	S82K/H117A	203
H216A/H257A	H76A/H117A	204
H216A/S222A	H76A/S82A	205
S52A	S[52]A	206
S60A	S[60]A	207
E394N/P395A/R396S	E245N/P246A/R247S	208

Вариант (по нумерации зрелого FVII)	Вариант (по нумерации химотрипсина)	SEQ ID NO полипептида FVII
R202S	R62S	209
A292N/A294S	A150N/A152S	210
G318N	G170fN	211
A175S	A39S	212
K109N	K-26N	213
A122N/G124S	A[122]N/G[124]S	214
A51N	A-84N	215
T130N/E132S	T[130]N/E[132]S	216
S50A/S62A	S[50]A/S[62]A	217
A122N/G124S/E394N/P395A/R396S	A[122]N/G[124]S/E245N/P246A/R247S	218
A122N/G124S/E394N/P395A/R396S/ G318N	A[122]N/G[124]S/E245N/P246A/R247S/G170fN	219
S52N/P54S	S[52]N/P[54]S	220
S119N/L121S	S[119]N/L[121]S	221
T128N/P129A	T[128]N/P[129]A	222
Q66N/Y68S	Q[66]N/Y[68]S	223
S52N/P54S/A122N/G124S/E394N/P395A/R396S	S[52]N/P[54]S/A[122]N/G[124]S/E245N/P246A/R247S	224
K109N/A292N/A294S	[K109N] /A150N/A152S	225
K109N/A175S	[K109N] /A39S	226
V158T/L287T/M298K	V21T/L144T/M156K	256
V158D/L287T/M298K	V21D/L144T/M156K	257
S103S111удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	S[103]S[111]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	227
H115S126удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	H[115]S[126]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	228
T128P134удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	T[128]P[134]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF	229
S103S111удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	S[103]S[111]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	230
H115S126удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	H[115]S[126]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	231
T128P134удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	T[128]P[134]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE	232
S103S111удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	S[103]S[111]удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	233
H115S126удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	H[115]S[126]удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	234
T128P134удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	T[128]P[134]удаление/вставкаDICLPRWGCLWED	235
P406вставкаIEDICLPRWGCLW	P257вставкаIEDICLPRWGCLW	236
P406вставкаGGGSIEDICLPRWGCLW	P257вставкаGGGSIEDICLPRWGCLW	237
P406вставкаDICLPRWGCLWED	P257вставкаDICLPRWGCLWED	238
P406вставкаGGGSDICLPRWGCLWED	P257вставкаGGGSDICLPRWGCLWED	239
S103S111удаление/вставкаSFGRGDIRNV	S[103]S[111]удаление/вставкаSFGRGDIRNV	240
H115S126удаление/вставкаSFGRGDIRNV	H[115]S[126]удаление/вставкаSFGRGDIRNV	241
T127P134удаление/вставкаSFGRGDIRNV	T[128]P[134]удаление/вставкаSFGRGDIRNV	242
P406вставкаCSFGRGDIRNVC	P257вставкаCSFGRGDIRNVC	243
P406вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC	P257вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC	244
Замена Gla FIX/S222A	Замена Gla FIX/S82A	245
Замена Gla FIX/H257A	Замена Gla FIX/H117A	246
Замена Gla FIX/S222A/H257A	Замена Gla FIX/S82A/H117A	247
S222A/M298Q	S82A/M156Q	248
H257A/M298Q	H117A/M156Q	249
S222A/H257A/M298Q	S82A/H117A/M156Q	250
S222A/A292N/A294S/Q366V	S82A/A150N/A152S/Q217V	251
A175S/S222A/Q366V	A39S/S82A/Q217V	252
S222A/Q366V	S82A/Q217V	253
H257S/Q366V	H117S/Q217V	254
S222A/H373A	S82A/H224A	255

Вариант (по нумерации зрелого FVII)	Вариант (по нумерации химотрипсина)	SEQ ID NO полипептида FVII
S103S111удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V	S[103]S[111]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G97V	258
S103S111удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V	S[103]S[111]удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G97V	259
H115S126удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V	H[115]S[126]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G97V	260
H115S126удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V	H[115]S[126]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G97V	261
H115S126удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V	H[115]S[126]удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G97V	262
T128P134удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V	T[128]P[134]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G97V	263
T128P134удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V	T[128]P[134]удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G97V	264
S103S111удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V	S[103]S[111]удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G97V	265
T128P134удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V	T[128]P[134]удаление/вставкаDICLPRWGCLWED/G97V	266
S103S111удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G237V	S[103]S[111]удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G97V	267
H115S126удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G237V	H[115]S[126]удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G97V	268
T128P134удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G237V	T[128]P[134]удаление/вставкаSFGRGDIRNV/G97V	269
M298Q/H373F	M156Q/H224F	270
S119N/L121S/A175S	S[119]N/L[121]S/A39S	271
T128N/P129A/A175S	T[128]N/P[129]A/A39S	272
A122N/G124S/A175S	A[122]N/G[124]S/A39S	273
{Замена Gla FIX/E40L}/Q286R/M298Q	{Замена Gla FIX/E[40]L}/Q143R/M156Q	274
{Замена Gla FIX/K43I}/Q286R/M298Q	{Замена Gla FIX/K[43]I}/Q143R/M156Q	275
{Замена Gla FIX/Q44S}/Q286R/M298Q	{Замена Gla FIX/Q[44]S}/Q143R/M156Q	276
{Замена Gla	{Замена Gla FIX/M[19]K}/Q143R/M156Q	277

Вариант (по нумерации зрелого FVII)	Вариант (по нумерации химотрипсина)	SEQ ID NO полипептида FVII
FIX/M19K}/Q286R/M298Q		
{Замена Gla FIX/M19K/E40L/K43I/Q44S}/Q286R/M298Q	{Замена Gla FIX/M[19]K/E[40]L/K[43]I/Q[44]S}/Q143R/M156Q	278
T128N/P129A/Q286R	T[128]N/P[129]A/Q143R	279
T128N/P129A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q	280
T128N/P129A/Q286R/H373F	T[128]N/P[129]A/Q143R/H224F	281
V158D/Q286R/E296V/M298Q	V21D/Q143R/E154V/M156Q	282
T128N/P129A/V158D/E296V/M298Q	T[128]N/P[129]A/V21D/E154V/M156Q	283
T128N/P129A/S222A	T[128]N/P[129]A/S82A	284
Замена Gla FIX/T128N/P129A/S222A/Q286R	Замена Gla FIX/T[128]N/P[129]A/S82A/Q143R	285
Замена Gla FIX/ T128N/P129A/Q286R/M298Q	Замена Gla FIX/ T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q	286
T128N/P129A/S222A/H257A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/S82A/H117A/Q143R/M156Q	287
T128N/P129A/Q286R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/H224F	288
S52A/S60A/V158D/E296V/M298Q	S[52]A/S[60]A/V21D/E154V/M156Q	289
S52A/S60A/Q286R	S[52]A/S[60]A/Q143R	290
S52A/S60A/S222A	S[52]A/S[60]A/S82A	291
Замена Gla FIX/ S52A/S60A/S222A/Q286R	Замена Gla FIX/S[52]A/S[60]A/S82A/Q143R	292
S52A/S60A/Q286R/M298Q	S[52]A/S[60]A/Q143R/M156Q	293
S52A/S60A/S222A/H257A/Q286R/M298Q	S[52]A/S[60]A/S82A/H117A/Q143R/M156Q	298
S52A/S60A/Q286R/H373F	S[52]A/S[60]A/Q143R/H224F	296
S52A/S60A/ Q286R/M298Q/H373F	S[52]A/S[60]A/Q143R/M156Q/H224F	297
V158D/T239V/E296V/M298Q	V21D/T99V/E154V/M156Q	298
T239V/Q286R	T99V/Q143R	299
S222A/T239V	S82A/T99V	300
Замена Gla FIX/S222A/T239V/Q286R	Замена Gla FIX/S82A/T99V/Q143R	301

Вариант (по нумерации зрелого FVII)	Вариант (по нумерации химотрипсина)	SEQ ID NO полипептида FVII
T239V/Q286R/M298Q	T99V/Q143R/M156Q	302
S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q	S82A/T99V/H117A/Q143R/M156Q	303
Замена Gla FIX/T239V/Q286R/M298Q	Замена Gla FIX/T99V/Q143R/M156Q	304
T239V/Q286R/H373F	T99V/Q143R/H224F	305
T239V/Q286R/M298Q/H373F	T99V/Q143R/M156Q/H224F	306
V158D/T239I/E296V/M298Q	V21D/T99I/E154V/M156Q	307
T239I/Q286R	T99I/Q143R	308
S222A/T239I	S82A/T99I	309
Замена Gla FIX/S222A/T239I/Q286R	Замена Gla FIX/S82A/T99I/Q143R	310
T239I/Q286R/M298Q	T99I/Q143R/M156Q	311
S222A/T239I/H257A/Q286R/M298Q	S82A/T99I/H117A/Q143R/M156Q	312
Замена Gla FIX/ T239I/Q286R/M298Q	Замена Gla FIX/T99I/Q143R/M156Q	313
T239I/Q286R/H373F	T99I/Q143R/H224F	314
T239I/Q286R/M298Q/H373F	T99I/Q143R/M156Q/H224F	315
Замена Gla FIX/ S222A/Q286R/H373F	Замена Gla FIX/S82A/Q143R/H224F	316
Замена Gla FIX/S222A/Q286R/M298Q	Замена Gla FIX/S82A/Q143R/M156Q	317
Замена Gla FIX/ S222A/Q286R/M298Q/H373F	Замена Gla FIX/S82A/Q143R/M156Q/H224F	318
V158D/E296V/M298Q/H373F	V21D/E154V/M156Q/H224F	319
V158D/Q286R/E296V/M298Q/H373F	V21D/Q143R/E154V/M156Q/H224F	320
H257A/Q286R/M298Q	H117A/Q143R/M156Q	321
H257S/Q286R/M298Q	H117S/Q143R/M156Q	322
Замена Gla FIX/ S222A/H257S/Q286R	Замена Gla FIX/S82A/H117S/Q143R	323
S222A/H257S/Q286R/M298Q	S82A/H117S/Q143R/M156Q	324
H257S/Q286R/M298Q/H373F	H117S/Q143R/M156Q/H224F	325
S222A/Q286R/M298Q/H373F	S82A/Q143R/M156Q/H224F	326

Вариант (по нумерации зрелого FVII)	Вариант (по нумерации химотрипсина)	SEQ ID NO полипептида FVII
Замена Gla FIX/Q366V	Замена Gla FIX/Q217V	327
S222A/Q286R/M298Q	S82A/Q143R/M156Q	328
T128N/P129A/A175S/Q366V	T[128]N/P[129]A/A39S/Q217V	329
A122N/G124S/A175S/Q366V	A[122]N/G[124]S/A39S/Q217V	330
T128N/P129A/A175S/S222A	T[128]N/P[129]A/A39S/S82A	331
A122N/G124S/A175S/S222A	A[122]N/G[124]S/A39S/S82A	332
T128N/P129A/A175S/Q286R	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R	333
A122N/G124S/A175S/Q286R	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R	334
Замена Gla FIX/T128N/P129A/A175S/S222A/Q286R	Замена Gla FIX/T[128]N/P[129]A/A39S/S82A/Q143R	335
Замена Gla FIX/A122N/G124S/A175S/S222A/Q286R	Замена Gla FIX/A[122]N/G[124]S/A39S/S82A/Q143R	336
T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R/M156Q	337
A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R/M156Q	338
T128N/P129A/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/A39S/S82A/H117A/Q143R/M156Q	339
A122N/G124S/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q	A[122]N/G[124]S/A39S/S82A/H117A/Q143R/M156Q	340
T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R/M156Q/H224F	341
A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q/H373F	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R/M156Q/H224F	342
T128N/P129A/M298Q	T[128]N/P[129]A/M156Q	354
{Замена Gla FIX /K43I}/T128N/P129A/Q286R/M298Q	{Замена Gla FIX /K[43]I}/ T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q	355
T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/Q217N	356
{Замена Gla FIX /K43I}/Q286R/M298Q/Q366N	{Замена Gla FIX /K[43]I}/Q143R/M156QQ217N	357
{Замена Gla FIX /K43I}/ T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N	{Замена Gla FIX /K[43]I}/ T[128]N/P[129]A/Q143R/M156QQ217N	358

Вариант (по нумерации зрелого FVII)	Вариант (по нумерации химотрипсина)	SEQ ID NO полипептида FVII
T128N/P129A/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/M156Q/H224F	359
V158D/Q286R/E296V/M298Q	V21D/Q143R/E154V/M156Q	360
M298Q/Q366N/H373F	M156Q/Q217N/H224F	361
T239V/M298Q/H373F	T99V/M156Q/H224F	362
T239I/M298Q/H373F	T99I/M156Q/H224F	363
T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N/H373F	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/Q217N/H224F	364
T239V/Q286R/M298Q/Q366N	T99V/Q143R/M156Q/Q217N	365
T239I/Q286R/M298Q/Q366N	T99I/Q143R/M156Q/Q217N	366
T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/T99V/Q143R/M156Q	367
T128N/P129A/S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/S82A/T99V/H117A/Q143R/M156Q	368
T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/T99V/Q143R/M156Q/H224F	369
T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/T99I/Q143R/M156Q	370
T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/T99I/Q143R/M156Q/H224F	371

C. Экспрессия полипептидов FVII.

Для первичного анализа экспрессии с помощью ИФА и Вестерн-блоттинга полипептиды FVII экспрессировали в BHK-21 клетках. Для биохимических анализов, таких как описано ниже, полипептиды FVII экспрессировали в Freestyle™ 293-F клетках (Invitrogen). Полипептид фактора VII дикого типа (SEQ ID NO: 3) и варианты полипептида FVII первоначально экспрессировали в линии клеток почки детеныша хомяка BHK-21 (ATCC CRL 1632). BHK-21 клетки культивировали в минимальной среде Игла (EMEM, Invitrogen) с 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) в 100 мм культуральных чашках при 37°C и 5% CO_2. После роста примерно до 90% покрытия клетки трансфицировали 24 мкг плазмидной ДНК FVII с использованием набора Lipofectamine 2000 Kit (Invitrogen) в соответствии с инструкциями производителя. Среду сменили через 6 ч после трансфекции на EMEM среду без сыворотки, содержащую 1 мкг/мл витамина K1 (Sigma), и инкубировали еще 72 ч. Экспрессию FVII в культуральную среду определяли методом ИФА или Вестерн-блоттинга.

Для последующего анализа с помощью биохимических методов, полипептид фактора VII дикого типа (SEQ ID NO: 3) и варианты полипептида FVII экспрессировали в Freestyle™ 293-F клетках (Invitrogen). Клетки культивировали в Freestyle™ 293 среде (Invitrogen) при 37°C и 8% CO_2 в колбах Эрленмейера с вентилируемыми крышками. Клетки трансфецировали по протоколу производителя. После роста до плотности 1×10 клеток/мл клетки центрифугировали и меняли среду. Затем клетки трансфецировали 240 мкг плазмидной ДНК FVII на каждые 240 мл клеток с использованием 293fectin (Invitrogen). Кроме того, на каждые 240 мл клеток было добавлено 50 мкл 1 мг/мл раствора витамина K1 (Sigma) в этаноле. Клетки выращивали в течение 5 дней, после чего собирали культуральный супернатант. Экспрессию FVII в культуральную среду определяли методом ИФА.

В некоторых примерах варианты полипептида FVII и FVII дикого типа экспрессировали в CHO-Express (CHOX) клетках (Excellgene). CHO Express (CHOX) клетки держали в полной среде DM202 (SAFC BioSciences) и использовали в качестве культуры для инокуляции продуцирующих культур. Культуры для инокуляции выращивали до плотности 5×10^6 жизнеспособных клеток/мл и около 60 мл культуры использовали инокуляции приблизительно 0,6 л полной среды DM202 (плотность инокуляции составляла $0{,}4\times10^6$ жизнеспособных клеток/мл) для получения продуцирующей культуры. Продуцирующую культуру выращивали в течение 4 дней для достижения плотности $8\text{-}12\times10^6$ жизнеспособных клеток/мл в день трансфекции. Комплекс для трансфекции формировали с помощью плазмидной ДНК фактора VII (6 мг) и 23,1 мг полиэтиленимина (PEI). Трансфекционный комплекс затем разводили в 0,5 л среды для трансфекции Opti-MEM без сыворотки (Invitrogen) и добавляли в 0,6 л продуцирующей культуры. Спустя 5 ч после трансфекции культуру дополнительно разбавляли ~1 л ProCHO5 среды (Lonza) с добавлением 8 мМ L-глутамина и 4 мг/л витамина K1. Экспрессия белка в 2,2 л культуры во встряхиваемой колбе происходила в течение 5-7 дней до выделения сырого фактора VII. Затем с помощью фильтрации собирали культуральный супернатант и очищали FVII. Экспрессию одного из вариантов FVII (Q286R/M298Q) проводили в стабильной клеточной линии. Указанную линию получили в Excellgene (Monthey, Valais, Швейцария) путем трансфекции клеток CHOX. Клетки, выращенные в присутствии метотрексата, высевали предельными разведениями по 1 клетке на лунку в 96-луночные планшеты. Клоны, продуцирующие высокие уровни варианта FVII, определяли методом ИФА. Один клон (клон 52) затем субклонировали с помощью второго предельного разведения и высеяли в 96-луночные планшеты. Колонии выращивали при 37°C в среде DM204A (SAFC BioSciences), дополненной 8 мМ L-глутамина, 1 мМ цистеина, 1 мг/л витамина K1. Методом ИФА были обнаружены 24 клона с более высокими уровнями экспрессии Q286R/M298Q по сравнению с исходным клоном 52. Эти 24 клона пересеяли в 6-

луночные планшеты и выращивали в течение 6 дней, затем выращивали в 40 мл колбах при встряхивании в течение четырех дней. Каждую стадию роста проводили при 37°C в среде DM204A, дополненной, как описано выше. После четырех дней роста клоны были заморожены при концентрации 1×10^7 жизнеспособных клеток/мл. Уровни продукции Q286R/M298Q каждого клона были определены методом ИФА. Клон 5F7 обладал самой высокой производительностью, как правило, продуцируя 25-35 мг/л Q286R/M298Q.

1.ИФА.

Иммуноанализ был использован для количественного определения человеческого FVII и FVIIa в образце. Поликлональные антитела к человеческому FVII были использованы для захвата и обнаружения протеазы в растворе. Иммуноанализ может быть использован для определения концентрации белка в кондиционированной среде или очищенном исходном растворе или для определения концентрации FVII в другом образце, например в образце плазмы человека или мыши. Базовый уровень FVII в крови человека составляет около 50 нМ, а концентрация ферментативно активной формы FVIIa составляет около 1 нм.

Для определения количества человеческого FVII или FVIIa белков в образцах был выполнен двойной ИФА. 96-луночные плоскодонные иммунопланшеты Maxisorp (Nunc) покрыли 100 мкл 5 нг/мкл авидина на лунку (NeutrAvidin, Pierce Biotech.). Планшеты покрыли и инкубировали при встряхивании в течение 1 ч при комнатной температуре (RT) с последующей четырехкратной промывкой PBS с 0,01% твин-20 (PBST). Планшеты блокировали в течение как минимум 1 ч при комнатной температуре при встряхивании путем инкубации с 1% бычьим сывороточным альбумином (БСА) (мас./об.) в PBS по 200 мкл на лунку. Блокированные планшеты хранили при -40°C до использования (до 2 недель). Перед использованием планшеты промывали четыре раза в PBST для удаления БСА и в каждую лунку добавляли 100 мкл/лунку 1 нг/мкл раствора биотинилированных антифактор VII антител (R&D Systems), планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение 45 мин при встряхивании для образования комплекса с авидином. Избыток несвязанных антител отмыли с планшетов PBST (четыре раза).

В планшеты добавили по 100 мкл/лунку последовательных двукратных разведений стандарта FVII (American Diagnostica; разводили в PBST) от 50 до 0,8 нг/мкл. Лунка, содержащая PBST без FVII, была использована в качестве контроля. Для анализа очищенных образцов FVII или FVIIa (до и после активации, см. пример 3) образец сначала разводили 1:25 в PBST, а затем последовательно разводили в два раза, получая 25-кратное, 50-кратное, 100-кратное и 200-кратное разведение. Разбавленные образцы добавляли в лунки по 100 мкл/лунку в двух повторностях. Для анализа образцов плазмы, содержащих FVII или FVIIa, образец плазмы разводили 1:100 и 1:400 в PBST и добавляли в лунки в двух повторностях по 100 мкл/лунку. Образцы плазмы без FVII или FVIIa также были использованы для определения фонового уровня. Затем планшеты инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре при встряхивании для образования комплекса FVII или FVIIa в образце с анти-FVII антителами.

После инкубации с образцом планшеты промывали 4 раза PBST. Вторичные антитела, лошадиные античеловеческий FVII антитела или моноклональные античеловеческий FVII антитела (American Diagnostica) разбавляли 1:5000 в PBST и добавляли в каждую лунку в объеме 100 мкл. Планшеты инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре при встряхивании для образования комплекса добавленных антител со связанным FVII или FVII на планшете. Для удаления избытка вторичных антител планшеты промывали PBST (4 раза). Для обнаружения связанных вторичных антител в каждую лунку добавляли 100 мкл коза антилошадь антител, сопряженных с HRP, разбавленных 1:5000 в PBST, или 100 мкл коза антимышь антител, сопряженных с HRP, разведенных 1:20000 в PBST. После инкубации в течение 30 мин при комнатной температуре при встряхивании планшеты промывали четыре раза PBST и добавляли 100 мкл/лунку раствора, содержащего 1:1 смесь субстрата TMB и пероксида водорода (Pierce Biotech.). Планшеты встряхивали в течение приблизительно 1 мин при комнатной температуре перед добавлением 100 мкл/лунку 2M H_2SO_4 для остановки реакции. Оптическую плотность при 450 нм измеряли с помощью планшетного спектрофотометра Molecular Device M5 и фоновое значение для планшета (измеряли в лунке только с PBST) вычитали из измеренных значений для каждой лунки. Стандартную кривую строили, откладывая значения поглощения против концентраций стандартов FVII. При указанных выше условиях диапазон стандартной кривой составлял приблизительно 0,2-50 нг/мл. Концентрацию каждого образца затем определяли с помощью калибровочной кривой и умножения на коэффициент разбавления, вычисляя среднее значение и стандартное отклонение.

2. Вестерн-блоттинг.

Экспрессия FVII в культуральную среду также определяли с помощью Вестерн-блоттинга. Аликвоты, содержащие неразбавленный образец или два последовательных разведения в два раза культуральной среды от трансфецированных FVII клеток в PBS (BHK-21 или CHOX клеток), обозначали Cone. 1 (неразбавленный), Cone. 2 (2-кратное разведение) и Cone. 3 (4-кратное разведение). Образцы загрузили на полиакриламидный гель с SDS рядом с 10, 25 и 50 нг очищенного из плазмы rFVII в качестве контроля (American Diagnostica). Белок FVII, вырабатываемый в BHK-21 или CHOX клетках, обнаруживали иммуноблоттингом с использованием первичных поликлональных лошадиных анти-FVII антител (American Diagnostica, использовали в предложенной производителем концентрации) и HRP-конъюгированных антилошадь IgG вторичных антител (разведение 1:2000 1 мг/мл раствора от Zymed Laboratories). В некото-

рых примерах FVII обнаруживали Вестерн-блоттингом с использованием первичных антител кролика против человеческого фактора VIIa (Hematologic Technologies) и HRP-конъюгированных вторичных антител против IgG кролика (Invitrogen). Уровень экспрессии определяли по сравнению с очищенным из плазмы контрольным rFVII. Результаты показывают, что в аликвотах культуральной среды FVII присутствует в концентрации от 20 до более чем 50 нг.

Пример 2. Очистка и активация полипептидов FVII.

Полипептиды FVII очищали с использованием Q Sepharose Fast Flow или CaptoQ колонок (GE Healthcare), на которых адсорбируются полипептиды FVII с функциональными доменами Gla, и последующей элюцией кальцием. Как правило, культуральный супернатант от трансфецированных клеток разбавляли в 2 раза раствором, содержащим 20 мМ Трис pH 8,0 и 0,01% Твин-20, а затем в разбавленный образец добавляли 500 мМ ЭДТА pH 8,0 до конечной концентрации 1,5 мМ. Образцы фильтровали перед нанесением на Q Sepharose Fast Flow или CaptoQ колонки, которые были предварительно уравновешены сначала буфером B (20 мМ Трис pH 8,0,1M NaCl, 0,01% твин 20), затем буфером A (20 мМ Трис pH 8,0, 0,15M NaCl, 0,01% твин 20). После нанесения образца колонку промывали буфером до выхода значений поглощения элюата при 280 нм на базовый уровень. Буфер A заменяли на буфер C (20 мМ Трис pH 8,0, 0,15M NaCl, 0,01% Твин-20, 5 мМ $CaCl_2$) и для полной замены буфера в трубках систему промыли насосом. После завершения промывания насосом буфер C пропускали через колонку при 8 мл/мин для элюирования полипептидов FVII, которые собирали во фракции. После элюирования колонку промывали буфером B, продолжая сбор фракций, до смывания розового пигмента (из культуральной среды) с колонки. Затем колонку промывали буфером для повторного уравновешивания его ее повторного использования.

Элюированные фракции затем очищали с использованием MonoQ или QHiTrap колонки (GE Healthcare), которая была предварительно уравновешена сначала буфером B, а затем буфером A. Фракции, собранные в буфере C выше, в которых содержится FVII, были объединены и разбавлены в 2 раза буфером A, затем к ним добавили ЭДТА, pH 8,0 до конечной концентрации 40 мМ. На данном этапе для анализа, например, методом ИФА были дополнительно отобраны малые аликвоты (например, 100 мкл). Объединенный образец нанесли на MonoQ (или QHiTrap) колонку, которую затем промыли буфером A. Для элюирования связанных полипептидов FVII через колонку пропускали градиент от 0% до 30% буфера B, собирая при этом фракции. Затем колонку промывали буфером B и буфером A для повторного уравновешивания его ее повторного использования.

В некоторых примерах, после первой колонки Capto Q в объединенных фракциях производили замену буфера с помощью диафильтрации в буфер D (20 мМ MES, pH 6,0, 10 мМ $CaCl_2$, 0,1M NaCl, 0,01% твин 20) и последующего нанесения на колонку SP-HP, предварительно уравновешенную буфером D. После промывания буфером D колонку промыли градиентом от 0,1M NaCl до 1,0M NaCl, собирая при этом фракции. Фракции, содержащие FVII, затем доводили до pH 8,0, разбавляли в 2 раза буфером E (20 мМ Трис, pH 8,0, 10 мМ $CaCl_2$, 0,01% твин 20) и наносили на колонку Q H-HP, предварительно уравновешенную буфером E. Колонку промывали буфером E и FVII элюировали градиентом 0-1M NaCl в буфере E.

Очищенные полипептиды FVII активировали с образованием FVIIa с использованием биотинилированного фактора Xa из набора для расщепления фактором Xa и его удаления Restriction Protease Factor Xa Cleavage and Removal Kit (Roche). Как правило, 7 фракций, полученных после очистки на MonoQ, объединяли в 15 мл коническую пробирку и к ним добавляли 388 мкл 500 мМ $CaCl_2$, 38,9 мкл 10% БСА в дистиллированной воде и 3,2 мкг биотинилированного фактора Xa. После инкубации в течение 14-16 ч при температуре 37°C к смеси добавляли 250 мкл иммобилизованного авидина (Pierce) и образец перемешивали при 4°C в течение 30 мин. Полученный раствор фильтровали на Econo-Pak колонке (Bio-Rad), фильтрат дополнительно смешивали с 250 мкл иммобилизованного авидина на 30 мин. Раствор снова фильтровали и фильтрат концентрировали до приблизительно 300-500 мкл с использованием Amicon Ultra-410 кДа фильтра для центрифугирования (Millipore). Концентрацию FVIIa затем определяли с помощью ИФА (как описано в примере 1.C.1) и уровень активации фактора VII контролировали методом Вестерн-блоттинга. Иммуноблоттинг проводили, как описано в примере 1.C.2, но с использованием антител кролика против человеческого фактора VIIa (Haematologic Technologies, Inc) при разведении 1:2000 в течение 1 ч в качестве первичных антител, а затем с использованием HRP-коза антикролик-IgG (H + L) антител (Invitrogen) при разведении 1:5000 в течение 30 мин.

Пример 3. Определение концентрации каталитически активной протеазы в растворе.

Концентрацию каталитически активной FVIIa в неразбавленном растворе определяли титрованием комплекса фактора VIIa и растворимого тканевого фактора (рТФ) необратимым ингибитором пептида FVIIa, Phe-Phe-Arg-хлорметилкетоном (FFR-CMK). Ингибитор связывается с FVIIa, но не с FVII. Продолжительная инкубация при высокой концентрации FVIIa (50 нМ) обеспечивает полное титрование протеазы. Для определения концентрации каталитически активной FVIIa в неразбавленном растворе определяли остаточную активность FVIIa/ТФ комплекса после инкубации с FFR-CMK.

96-луночный прозрачный планшет формата half area для анализа (Nunc) предварительно обрабатывали добавлением 150 мкл/лунку 1 × планшетного буфера (100 мМ Трис pH 8,4, 100 мМ NaCl, 0,01% БСА, 0,01% твин-20) в каждую лунку и инкубацией планшета при 37°C в течение как минимум 1 ч. Бу-

фер полностью удаляли бумажным полотенцем и центрифугировали планшеты вверх дном, чтобы удалить весь оставшийся буфер, планшеты сушили на воздухе в течение 1 ч и хранили закрытыми при комнатной температуре (RT). Для приготовления FVIIa/рТФ/FFR-CMK реакционной смеси раствор FVIIa (American Diagnostica; разбавляли до 5 мкМ 50 об.% глицерином и хранили в аликвотах при -20°С) или варианта FVIIa сначала разбавляли до 500 нМ 1 × прямым буфером для анализа (100 мМ Трис pH 8,4, 100 мМ NaCl, 5 мМ $CaCl_2$, 0,01% БСА). FVIIa/рТФ смесь готовили путем смешения 90 мкл дистиллированной воды с 36 мкл 5 × прямого буфера для анализа, 18 мкл 500 нМ FVIIa и 18 мкл 5 мкм рТФ (рекомбинантный человеческий фактор свертывания III/растворимый тканевый фактор, R&D Systems; неразбавленный раствор 19,6 мкМ в 50% глицерине разбавляли до 5 мкМ в 1 × прямом буфере для анализа и хранили до двух недель при температуре 4°С). Компоненты инкубировали для образования комплекса в течение 5 мин при комнатной температуре.

Исходный раствор 10 мМ FFR-CMK (BaChem) в ДМСО (хранили при температуре -20°С) разводили в воде до 3,5 мкМ. В одном ряду в 11 лунках непрозрачного 96-луночного полипропиленового планшета (Costar) были приготовлены последовательные двукратные разведения FFR-CMK в воде, в последнюю лунку ряда внесли только воду в качестве контроля. Таким образом, получили серию 10 × FFR-CMK растворов ингибитора. В каждую лунку ряда предварительно обработанного прозрачного 96-луночного планшета формата half area для анализа добавили 10,8 мкл смеси FVIIa/рТФ, а затем 1,2 мкл 10 × FFR-CMK серийного раствора ингибитора. Растворы хорошо перемешивали и планшеты центрифугировали при <3000 об/мин в течение 5 мин для удаления каплей из лунок. Планшет закрыли и инкубировали в течение 8 ч при 37°С.

Для анализа остаточной активности FVIIa/ТФ комплекса была приготовлена смесь субстрата Spectrozyme FVIIa (American Diagnostica, # 217L; восстановленный исходный раствор, приготовленный растворением 50 мкмоль субстрата из флакона в 5 мл дистиллированной воды с получением 10 мМ раствора, хранили при 4°С) и 5-кратного прямого буфера (500 мМ Трис pH 8,4, 500 мМ NaCl, 25 мМ $CaCl_2$ и 0,05% БСА) путем смешивания 360 мкл 5 × прямого буфера для анализа с 180 мкл 10 мМ раствора Spectrozyme FVIIa и 1080 мкл воды. В каждую лунку планшета для анализа добавляли 108 мкл приготовленного раствора субстрата. Содержимое лунок перемешали и планшеты инкубировали при 37°С. Увеличение абсорбции при 405 нм измеряли каждые 30 с в течение 1 ч при 37°С на планшетном спектрофотометре Spectramax Gemini M5 от Molecular Devices.

С использованием SoftMax Pro программного обеспечения (Molecular Devices) были измерены величины абсорбции и определены относительные значения активности протеаз после инкубации с ингибитором путем деления измеренной скорости на скорость реакции, катализируемой не ингибированной протеазой. Относительную активность отложили против концентрации FFR-CMK и точки, которые составляли более 90% или менее 10% от не ингибированной активности, отбросили. Затем через остальные точки была проведена прямая и определена величина отрезка, отсекаемого прямой на оси X, которая представляет собой концентрацию активной протеазы в растворе. Были измерены и усреднены величины из нескольких анализов, и было определено стандартное отклонение.

Пример 4. Определение каталитической активности FYIIa для его субстрата фактора X.

Каталитическую активность вариантов FVIIa для его субстрата фактора X (FX) оценивали косвенно во флуоресцентном анализе путем анализа активности FXa, образованного при активации фактором FVIIa, активность FXa определяли с помощью синтетического субстрата Spectrafluor FXa.

А. ТФ-зависимая каталитическая активность FVIIa дикого типа для его субстрата фактора X.

ТФ-зависимая каталитическая активность FVIIa дикого типа оценивали с помощью флуоресцентного анализа, в который для обеспечения оптимальной активности FVIIa была включена связанная с липидами форма очищенного тканевого фактора (ТФ). Активность фермента FXa для Spectrafluor FXa (CH_3SO_2-D-CHA-Gly-ATg-AMC.AcOH) определяли путем измерения увеличения абсорбции свободного флуорофора, AMC (7-амино-4-метилкумарин), как функции от времени. Полипептид FVIIa дикого типа сначала разбавляли до 0,5 мкМ 1 × буфером для анализа (100 мМ Трис pH 8,4, 100 мМ NaCl, 5 мМ $CaCl_2$, и 0,01% БСА), а затем разбавляли до 0,1 нМ буфером для анализа. Связанный с липидами полноразмерный ТФ (Innovin; Dade Behring) восстановили в 20 мл воды, получили 3 нМ раствор и разбавили его до 0,2 нМ в 1 × буфере для анализа. Четыреста мкл 0,1 нМ FVIIa смешивали с 400 мкл 0,2 нМ ТФ и выдерживали при комнатной температуре в течение 5 мин. Раствор дополнительно два раза последовательно разбавляли в 2 раза в 1 * буфере с 0,2 нМ ТФ с получением в общей сложности трех разведений FVIIa с концентрациями FVIIa 0,05 нМ, 0,025 нМ или 0,0125 нМ, каждая из которых содержит 0,2 нМ ТФ (растворы FVIIa/ТФ).

Субстрат фактор X (FX; American Diagnostica, 80 мкг) восстанавливали в 135,6 мкл дистиллированной воды с получением 10 мкМ исходного раствора, который хранили в аликвотах при -80°С. Аликвоты не замораживали и оттаивали более одного раза. Исходный раствор FX разбавляли до 800 нМ в прямом буфере для анализа, затем последовательно разводили в 2 раза с получением растворов с концентрацией FX от 800 до 50 нМ.

Spectrofluor Xa (American Diagnostica, 10 мкмоль) восстанавливали в дистиллированной воде до 5

мМ и хранили при 4°С. В каждую лунку 96-луночного черного планшета для анализа формата half area (Costar) добавляли 5 мкл Spectrofluor Xa (American Diagnostica). Затем в каждую лунку добавили 25 мкл раствора FX. Последний ряд лунок планшета служил отрицательным контролем без добавления FX. В лунки соответствующих столбцов планшета в двух повторностях были добавлены растворы ТФ/FVIIa трех концентраций по 20 мкл, так что каждое разведение ТФ/FVIIa исследовали с каждым разведением FX, при этом один набор столбцов не содержал добавленного ТФ/FVIIa (т.е. только FX). Содержимое планшета перемешали встряхиванием. Флуоресценцию измеряли во времени на спектрофлуориметре каждые 30 с в течение 1 ч при температуре 37°С (возбуждение: 380 нм, излучение: 450 нм, граница пропускания фильтра: 435 нм), время откладывали в единицах квадрата времени. После анализа на том же планшетном сканере была построена стандартная кривая флуоресценции АМС для перевода единиц флуоресценции в мкМ высвобожденного в процессе анализа субстрата. 1 мМ АМС в ДМСО (Invitrogen) разбавляли до 0,02 мМ в 1 × буфере для анализа. Приготовили шесть последовательных двукратных разведений АМС в пределах от 20 нМ до 0,625 нМ в 1 × буфере. Флуоресценцию АМС измеряли при тех же условиях анализа, как описано выше, после чего строили зависимость флуоресценции от концентрации АМС. Был рассчитан наклон линии, который служил коэффициентом преобразования относительных единиц флуоресценции в мкМ в дальнейших расчетах.

Кинетические константы для активации FX белком FVIIa были рассчитаны с помощью линейной регрессии зависимости обратной концентрации субстрата от обратной скорости расщепления субстрата (в $с^2$); V_{max} FVIIa рассчитывали как величину, обратную отсекаемому на оси Y отрезку, K_m FVIIa рассчитывали как наклон прямой у отсекаемого на оси Y отрезка, и V_{max}/K_m FVIIa как обратный наклон. Величину $K_{кат}$ получали с использованием уравнения

$$K_{кат}/K_{M,\ FVIIa} = V_{max}/K_{M,\ FVIIa} \times 1/(0{,}5 \times k_2 \times [\text{FVIIa, мкМ}] \times \text{PFU (единицы флуоресценции/коэффициент преобразования единиц флуоресценции, мкМ)}),$$

где $k_2 = ([S] \times K_{кат,\ FXa})/(K_{M,\ FXa} + [S])$, где $K_{кат,\ FXa}$ и $K_{M,\ FXa}$ являются константами для расщепления FXa субстрата SpectrofluorXa, определяемыми экспериментально с помощью стандартов как $K_{кат,\ FXa} = 117\ с^{-1}$ и $K_{M,\ FXa} = 164$ мкМ.

В указанных выше условиях анализа величина кинетической константы k_2 составила 88,1 $с^{-1}$.

Для оценки каталитической активности $k_{кат}/K_M$ ($М^{-1}с^{-1}$) каждого из вариантов FVIIa для субстрата FX были определены K_M и $k_{кат}$ (табл. 14). Протеаза FVIIa дикого типа обладала активностью $1{,}8\times10^7\ М^{-1}с^{-1}$. Активация фактора X фактором VIIa, измеренная Krishnaswamy и др., (J. Biol. Chem. (1998) 273:8 4378-86), составляла $2{,}9\times10^7\ М^{-1}с^{-1}$.

В. Анализ каталитической активности вариантов FVIIa для его субстрата фактора X.

Каталитическую активность вариантов FVIIa для субстрата фактора X (FX) оценивали косвенно с помощью двух типов хромогенного анализа путем анализа активности FXa, образованного при активации фактором FVIIa, с помощью синтетического субстрата Spectrafluor FXa. Для оценки ТФ-зависимой и ТФ-независимой активности анализы проводили в присутствии или в отсутствие связанного с липидами тканевого фактора. Варианты FVII были экспрессированы, очищены и активированы с образованием FVIIa, как описано выше в примерах 1 и 2. Хотя большинство вариантов FVII были экспрессированы только в Freestyle™ 293-F клетках, некоторые из вариантов также были экспрессированы в BHK-21 клетках.

Непрямой анализ в присутствии связанного с липидами тканевого фактора.

Каталитическую активность вариантов FVIIa в присутствии тканевого фактора оценивали с помощью анализа, описанного в разделе А примера 4 выше, с незначительными изменениями. Одним из таких изменений было использование субстрата фактора X, который были обработан ERG-CMK и FFR-CMK для уменьшения фоновой активности (Molecular Innovations). Были использованы два типа анализа данных с использованием двух отдельных анализов: линейный анализ и гиперболический анализ. Для обеспечения точного измерения кинетических констант в линейном диапазоне кривой для линейного анализа использовали диапазон концентраций фактора X между 0 и 150 нМ. Напротив, для обеспечения точного измерения кинетических констант в насыщающей (гиперболической) кривой использовали гиперболический анализ при концентрациях фактора X между 0 и 1,44 мкм.

Непрямой анализ в линейном диапазоне в присутствии связанного с липидами тканевого фактора проводили, как описано в разделе А примера 4 выше, со следующими изменениями. Растворы варианта FVIIa/ТФ приготовили в виде 0,1 нМ FVIIa, 0,4 нМ ТФ растворов и инкубировали в течение 30 мин до разбавления в два раза 0,4 нМ ТФ с получением 1,5625 пМ FVIIa/0,4 нМ ТФ раствора. 25 мкл раствора FVIIa/ТФ смешивали с 25 мкл раствора субстрата, содержащего 1,0 мМ Spectrofluor FXa (American Diagnostica) и 300, 200, 133,3, 88,9, 59,3, 39,5, 36,3 или 0 нМ фактора X (Molecular Innovations). Таким образом, конечные концентрации для анализа составляли 0,8 пМ FVIIa, 0,2 нМ ТФ, 0,5 мМ Spectrofluor FXa и 150, 100, 66,7, 44,4, 29,6, 19,8, 13,2 или 0 нМ фактора X (Molecular Innovations) в 50 мкл/лунку. Стандартную кривую АМС, которая служила для преобразования единиц флуоресценции в мкМ в последующих расчетах, расширили за счет включения диапазон доз, который покрывал от 0 до 100 мкМ АМС.

Непрямой анализ в гиперболическом диапазоне в присутствии связанного с липидами тканевого фактора проводили, как описано в разделе А примера 4 выше, со следующими изменениями. Были при-

готовлены растворы варианта FVIIa/ТФ в виде 0,1 нМ FVIIa/0,4 нМ ТФ раствора, их инкубировали в течение 30 минут, затем разбавили в два раза 0,4 нМ ТФ до 1,5625 пМ (или до 0,78 пМ в случае высокоактивной протеазы) FVIIa/0,4 нМ ТФ раствора. Двадцать пять мкл раствора FVIIa/ТФ смешивали с 25 мкл раствора субстрата, содержащего 1,0 мМ Spectrofluor FXa (American Diagnostica) и 1440, 720, 360, 180, 90, 45, 22,5 или 0 нМ фактора X (Molecular Innovations). Таким образом, конечные концентрации для анализа составляли: 0,8 (или 0,39) пМ FVIIa, 0,2 нМ ТФ, 0,5 мМ Spectrofluor FXa и 7, 720, 360, 180, 90, 45, 22,5, 11,25 или 0 нМ фактора X (Molecular Innovations) в 50 мкл/лунку. Параметры $K_{кат}$ и K_M рассчитывали с использованием гиперболического уравнения Михаэлис Ментон вида ($V_{max}/(1+(K_M/x))$). Стандартную кривую AMC, которая служила для преобразования единиц флуоресценции в мкМ в последующих расчетах, расширили за счет включения диапазон доз, который покрывал от 0 до 100 мкМ AMC.

Для определения кинетических констант для активации FX фактором FVIIa или вариантом FVIIa необработанные данные, полученные с помощью приложения SoftMax Pro (Molecular Devices), экспортировали в XML-файлы. Дальнейшие линейные и нелинейные анализы данных проводили с помощью пакета программного обеспечения XLfit4 для автоматизированного аппроксимирования кривых и статистического анализа в интерфейсе таблиц Microsoft Excel (IDBS Software).

При обработке данных с помощью линейного анализа кинетическую константу $k_{кат}/K_M$ ($M^{-1}c^{-1}$) вычисляли непосредственно из наклона прямой, полученной линейной регрессией зависимости концентрации FX от скорости расщепления флуорогенного субстрата (в мкМ/c^2), где $k_{кат}/K_M$ - наклон/[FVIIa]×0,5× k_2. Значение поправочного коэффициента k_2 было определено как 45, как описано в разделе A примера 4, значения экспериментально определенных кинетических констант составили $k_{кат, Fxa}$ = 56 c^{-1} и $K_{M, FXa}$ = 126 нМ для активированного FX (FXa), в котором ранее оттитровали активные центры AT-III/гепарином. При использовании обычных методов аппроксимации для обеспечения линейности исключили данные, которые приводили к значениям R^2 менее 0,98.

Обработку данных, полученных из анализа гиперболического диапазона, проводили нелинейным регрессионным анализом зависимости концентрации FX от скорости расщепления флуорогенного субстрата (в мкМ/c^2). Отдельных параметры $k_{кат}$ и K_M рассчитывали как параметры аппроксимации с помощью гиперболического уравнения Михаэлиса-Ментон вида ($V_{max}/(1+(K_M/x))$), где $k_{кат} = V_{max}/[FVIIa] \times 0,5 \times k_2$. Кинетическую константу $k_{кат}$ и K_M рассчитывали из параметров аппроксимации $k_{кат}$ и K_M.

Непрямой анализ без тканевого фактора.

Каталитическую активность вариантов FVIIa в присутствии тканевого фактора определяли в непрямом анализе, аналогичном описанному выше, за тем исключением, что тканевой фактор не был включен в анализ. Таким образом, анализ для оценки ТФ-независимой активности проводили, как описано выше, но с некоторыми изменениями. Растворы вариантов FVIIa разбавляли до 50 нМ (или 5 нМ для вариантов с ожидаемой высокой ТФ-независимой активностью). 25 мкл каждого раствора FVIIa смешивали с 25 мкл раствора субстрата, содержащего 1,0 мМ Spectrofluor FXa (American Diagnostica), и 1050, 700, 466,7, 311,1, 207,4, 138,3, 92,2 или 0 нМ фактора X (Molecular Innovations). Таким образом, конечные концентрации для анализа составляли: 25 нМ FVIIa (или 2,5 нМ для высокоактивных вариантов), 0,5 мМ Spectrofluor FXa и 525, 350, 233,3, 155,6, 103,7, 69,1, 46,1 или 0 нМ фактора X (Molecular Innovations) в 50 мкл/лунку. Анализ данных проводили, как описано для анализа линейного диапазона выше без изменений.

В табл. 14 приведена каталитическая активность вариантов FVIIa, измеренная непрямым ТФ-зависимым методом с использованием полипептидов FVIIa, экспрессированных в 293-F клетках и BHK-21 клетках, и каталитическая активность, измеренная ТФ-независимым непрямым методом с использованием полипептидов FVIIa, экспрессированных в 293-F клетках и/или BHK-21 клетках. Результаты представлены в виде кинетической константы каталитической активности $k_{кат}/K_M$ ($M^{-1}c^{-1}$), а также выражены в процентах от активности FVIIa дикого типа, где активность представляет собой каталитическую активность k_{KAT}/K_M ($M^{-1}c^{-1}$) каждого варианта FVIIa для его субстрата FX. Для представленных в таблице данных указано использование линейного или гиперболического диапазона для анализа. Не все варианты FVIIa исследовали в каждом анализе. Несколько вариантов FVIIa проявляли увеличенную каталитическую активность по сравнению с молекулой FVIIa дикого типа. Например, полипептид FVIIa, содержащий только мутацию Q286R (Q286R-FVIIa), обладает в 2-3 раза более высокой каталитической активностью, чем FVIIa дикого типа, а полипептид FVIIa с мутацией Q286R и мутацией M298Q (Q286R/M298Q-FVIIa) обладает каталитической активностью в 3 раза большей, чем активность FVIIa дикого типа.

Таблица 14

Каталитическая активность вариантов FVIIa

ТФ-зависимый непрямой анализ с полипептидами FVIIa, полученными в 293-F клетках				
Мутация (по нумерации зрелого FVII)	**Мутация (по нумерации химотрипсина)**	**Формат анализа**	**$K_{кат}/K_M$ ($M^{-1}сек^{-1}$)**	**$K_{кат}/K_M$ (%от величины для дикого типа)**
Q286N	Q143N	гиперболический	4.88×10^7	100
Q286E	Q143E	гиперболический	1.14×10^7	23
Q286D	Q143D	гиперболический	6.04×10^6	12
Q286S	Q143S	гиперболический	4.64×10^7	95
Q286T	Q143T	гиперболический	2.44×10^7	50
Q286R	Q143R	линейный	1.11×10^8	323
Q286K	Q143K	гиперболический	5.44×10^7	112
Q286A	Q143A	гиперболический	8.55×10^7	175
Q286V	Q143V	гиперболический	1.65×10^7	34
H216S	H76S	линейный	4.74×10^7	138
H216A	H76A	линейный	5.98×10^7	175
H216K	H76K	гиперболический	6.51×10^7	133
H216R	H76R	гиперболический	9.44×10^7	193
S222A	S82A	линейный	5.73×10^7	167
S222K	S82K	линейный	8.02×10^7	234
H257A	H117A	линейный	3.90×10^7	114
H257S	H117S	линейный	5.90×10^7	172
K161S	K24S	гиперболический	5.99×10^7	123
K161A	K24A	линейный	4.22×10^7	123
K161V	K24V	гиперболический	5.45×10^7	112
H373D	H224D	линейный	1.79×10^7	52
H373E	H224E	линейный	2.79×10^7	81
H373S	H224S	линейный	2.75×10^7	80
H373F	H224F	линейный	5.11×10^7	149
H373A	H224A	линейный	3.11×10^7	91
S52A	S[52]A	линейный	4.66×10^7	136
S60A	S[60]A	линейный	5.15×10^7	150
Q366D	Q217D	линейный	1.88×10^7	55
Q366E	Q217E	линейный	4.77×10^7	139
Q366N	Q217N	линейный	5.64×10^7	165
Q366T	Q217T	линейный	3.42×10^7	100
Q366S	Q217S	линейный	2.70×10^7	79
Q366V	Q217V	линейный	6.59×10^7	192
E394N/P395A/R396S	E245N/P246A/R247S	линейный	5.32×10^7	155
R202S	R62S	линейный	2.57×10^7	75
A292N/A294S	A150N/A152S	линейный	0	0
G318N	G170fN	линейный	5.50×10^7	161
A175S	A39S	линейный	3.32×10^7	97
K109N	K[109]N	линейный	5.97×10^7	174

A122N/G124S	A[122]N/G[124]S	линейный	5.27×10^7	154
T130N/E132S	T[130]N/E[132]S	линейный	6.35×10^7	185
A122N/G124S/ E394N/P395A/ R396S	A[122]N/G[124]S/ E245N/P246A/ R247S	линейный	4.88×10^7	142
V158T/L287T/ M298K	V21T/L144T/M15 6K	линейный	4.50×10^6	13
V158D/L287T/ M298K	V21D/L144T/ M156K	линейный	4.48×10^6	13
S103S111удаление/ вставкаSFGRGDIR NV	S[103]S[111] удаление/вставка SFGRGDIRNV	линейный	4.83×10^7	141
P406insCSFGRGDI RNVC	P257insCSFGRG DIRNVC	линейный	6.16×10^7	180
P406insGGGSCSFG RGDIRNVC	P257insGGGSCS FGRGDIRNVC	линейный	7.47×10^7	218
T128N/P129A	T[128]N/P[129]A	линейный	5.96×10^7	174
S222A/ замена Gla FIX	S82A/замена Gla FIX	линейный	6.55×10^7	189
H257A/ замена Gla FIX	H117A/замена Gla FIX	линейный	6.45×10^7	186
S222A/H257A/ замена Gla FIX	S82A/H117A/ замена Gla FIX	линейный	5.77×10^7	168
Q286R/ замена Gla FIX	Q143R/замена Gla FIX	линейный	1.11×10^8	323
Q286R/H257A	Q143R/H117A	линейный	1.27×10^8	371
Q286R/S222A	Q143R/S82A	линейный	1.42×10^8	415
Q286R/S222A/ H257A	Q143R/S82A/ H117A	линейный	9.51×10^7	278
Q286R/S222A/ замена Gla FIX	Q143R/S82A/ замена Gla FIX	линейный	1.61×10^8	470
Q286R/H257A/ замена Gla FIX	Q143R/H117A/ замена Gla FIX	линейный	8.09×10^7	234
Q286R/S222A/H257 A/замена Gla FIX	Q143R/S82A/H11 7A/замена Gla FIX	линейный	7.75×10^7	226
Q286R/M298Q/ K341Q	Q143R/M156Q/ K192Q	линейный	3.93×10^7	115
Q286R/M298Q/ K199E	Q143R/M156Q/ K60cE	линейный	7.74×10^7	226
T239S	T99S	линейный	1.74×10^7	51
T239Q	T99Q	линейный	1.74×10^7	51
T239V	T99V	линейный	9.57×10^7	279
T239L	T99L	линейный	3.77×10^7	110
T239H	T99H	линейный	9.90×10^6	29
T239I	T99I	линейный	3.50×10^7	102
S222A/II257A/ M298Q	S82A/II117A/ M156Q	линейный	7.75×10^7	224
S222A/H257A/ Q286R/M298Q	S82A/H117A/ Q143R/M156Q	линейный	2.00×10^8	583
S222A/H257A	S82A/H117A	линейный	5.02×10^7	147
A175S/Q286R/ Q366V	A39S/Q143R/ Q217V	линейный	8.08×10^7	236
A175S/S222A/ Q366V	A39S/S82A/ Q217V	линейный	3.78×10^7	109
K109N/A175S	K[109]N/A39S	линейный	3.67×10^7	107
S222A/Q286R/ Q366V	S82A/Q143R/ Q217V	линейный	1.27×10^8	369
Q286M	Q143M	линейный	5.25×10^7	153
Q286L	Q143L	линейный	2.02×10^7	59
Q286Y	Q143Y	линейный	1.61×10^7	47
Q366I	Q217I	линейный	9.37×10^7	274
Q366L	Q217L	линейный	6.87×10^7	201
Q366M	Q217M	линейный	6.61×10^7	193
S222V	S82V	линейный	6.04×10^7	176
S222D	S82D	линейный	5.34×10^7	156
S222N	S82N	линейный	6.82×10^7	199
S222E	S82E	линейный	5.48×10^7	160

H216A/H257A	H76A/H117A	линейный	6.62×10^7	193
H216A/S222A	H76A/S82A	линейный	5.46×10^7	159
H257S/Q286R	H117S/Q143R	линейный	3.93×10^7	115
H257S/Q366V	H117S/Q217V	линейный	6.71×10^7	194
H257S/Q286R/ Q366V	H117S/Q143R/ Q217V	линейный	1.58×10^8	457
S222A/H257A/ Q286R/Q366V	S82A/H117A/ Q143R/Q217V	линейный	1.86×10^8	538
Q366V/H373V	Q217V/H224V	линейный	1.84×10^7	53
Q366V/H373L	Q217V/H224L	линейный	3.07×10^7	89
Q286R/H373A	Q143R/H224A	линейный	5.89×10^7	172
S222A/H373A	S82A/H224A	линейный	3.64×10^7	106
Q286R/M298Q/ K341D	Q143R/M156Q /K192D	линейный	1.18×10^7	34
Q286R/K341D	Q143R/K192D	линейный	1.11×10^7	32
Q286R/Q366D	Q143R/Q217D	линейный	1.53×10^7	45
Q286R/Q366N	Q143R/Q217N	линейный	5.42×10^7	158
Q286R/M298Q/ Q366D	Q143R/M156Q/ Q217D	линейный	1.91×10^7	56
Q286R/M298Q/ Q366N	Q143R/M156Q/ Q217N	линейный	1.04×10^8	305
Q286R/H373F	Q143R/H224F	линейный	9.08×10^7	265
Q286R/M298Q/ H373F	Q143R/M156Q/ H224F	линейный	1.51×10^8	440
M298Q/H373F	M156Q/H224F	линейный	8.49×10^7	248
S119N/L121S/ A175S	S[119]N/L[121]S/ A39S	линейный	2.92×10^7	85
T128N/P129A/ A175S	T[128]N/P[129]A/ A39S	линейный	2.98×10^7	87
A122N/G124S/ A175S	A[122]N/G[124]S/ A39S	линейный	2.79×10^7	81
M298Q	M156Q	линейный	1.4×10^8	409

ТФ-зависимый непрямой анализ с полипептидами FVIIa, полученными в BHK-21 клетках

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	**Мутация (по нумерации химотрипсина)**	**Формат анализа**	**$K_{кат}/K_M$ ($M^{-1}сек^{-1}$)**	**$K_{кат}/K_M$ (% от величины для дикого типа)**
Дикий тип	Дикий тип	линейный	5.42×10^7	100
Q286R	Q143R	линейный	1.01×10^8	187
H216A	H76A	линейный	5.98×10^7	110
S222A	S82A	линейный	6.42×10^7	118
H257A	H117A	линейный	4.96×10^7	91
H257S	H117S	линейный	7.65×10^7	141
H373F	H224F	линейный	4.82×10^7	89
S52A	S[52]A	линейный	3.50×10^7	65
S60A	S[60]A	линейный	3.22×10^7	59
Q366D	Q217D	линейный	9.80×10^6	18
Q366N	Q217N	линейный	3.44×10^7	63
Q366V	Q217V	линейный	1.86×10^8	342
G318N	G170fN	линейный	5.46×10^7	101
A175S	A39S	линейный	2.12×10^7	39
A122N/G124S	A[122]N/G[124]S	линейный	8.05×10^7	148
A51N	A[51]N	линейный	1.02×10^8	188
S52A/S60A	S[52]A/S[60]A	линейный	1.05×10^8	193
P406вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC	P257вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC	линейный	9.54×10^7	176
S119N/L121S	S[119]N/L[121]S	линейный	5.75×10^7	106
T128N/P129A	T[128]N/P[129]A	линейный	8.76×10^7	161
Q286R/S222A	Q143R/S82A	линейный	1.24×10^8	229
Q286R/S222A/H257A	Q143R/S82A/ H117A	линейный	1.06×10^8	196
Q286R/S222A/ замена Gla FIX	Q143R/S82A/ замена Gla FIX	линейный	8.52×10^7	157
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	линейный	1.85×10^8	341

Q286R/M298Q/K341Q	Q143R/M156Q/ K192Q	линейный	3.11 x 10^7	57
Q286R/M298Q/K199E	Q143R/M156Q/ K60cE	линейный	9.18 x 10^7	169
P321K	P170iK	линейный	3.43 x 10^7	63
P321E	P170iE	линейный	5.59 x 10^7	103
P321Y	P170iY	линейный	4.48 x 10^7	83
P321S	P170iS	линейный	5.53 x 10^7	102
T239N	T99N	линейный	1.64 x 10^7	30
T239Q	T99Q	линейный	1.70 x 10^7	31
T239V	T99V	линейный	9.81 x 10^7	181
T239L	T99L	линейный	5.24 x 10^7	97
T239H	T99H	линейный	1.25 x 10^7	23
T239I	T99I	линейный	4.67 x 10^7	86
S222A/M298Q	S82A/M156Q	линейный	7.13 x 10^7	131
H257A/M298Q	H117A/M156Q	линейный	1.28 x 10^8	236
S222A/H257A/Q286R/ M298Q	S82A/H117A/ Q143R/M156Q	линейный	1.94 x 10^8	358
Q286R/M298Q/замена Gla FIX	Q143R/M156Q/ замена Gla FIX	линейный	2.64 x 10^8	487
Q286R/Q366V	Q143R/Q217V	линейный	7.92 x 10^7	146
A175S/Q286R/Q366V	A39S/Q143R/ Q217V	линейный	7.63 x 10^7	141
K109N/A175S	K[109]N/A39S	линейный	2.45 x 10^7	45
S222A/Q286R/Q366V	S82A/Q143R/ Q217V	линейный	1.44 x 10^8	265
Q286R/M298Q/K341D	Q143R/M156Q/ K192D	линейный	1.35 x 10^7	25
Q286R/H373F	Q143R/H224F	линейный	1.18 x 10^8	218
Q286R/M298Q/H373F	Q143R/M156Q/ H224F	линейный	2.01 x 10^8	371
M298Q/H373F	M156Q/H224F	линейный	8.69 x 10^7	160
A122N/G124S/A175S	A[122]N/G[124]S/ A39S	линейный	1.93 x 10^7	36
M298Q	M156Q	линейный	9.34 x 10^7	172

ТФ-независимый непрямой анализ

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	293-F клетки		ВНК-21 клетки	
		$K_{кат}/K_M$ ($M^{-1}сек^{-1}$)	$K_{кат}/K_M$ (% от величины для дикого типа)	$K_{кат}/K_M$ ($M^{-1}сек^{-1}$)	$K_{кат}/K_M$ (% от величины для дикого типа)
WT	WT	2.26x 10^1	100	1.58x 10^1	100
Q286N	Q143N	3.03x 10^1	134		
Q286E	Q143E	4.80	21		
Q286D	Q143D	3.50x 10^{-1}	2		
Q286S	Q143S	2.66x 10^1	118		
Q286T	Q143T	1.51x 10^1	67		
Q286R	Q143R	4.87x 10^1	215	4.08x 10^1	259
Q286K	Q143K	3.95x 10^1	175		
Q286A	Q143A	2.11x 10^1	93		
Q286V	Q143V	2.35	10		
S222A	S82A	7.36x 10^1	326	3.10x 10^1	197
H257A	H117A	2.02x 10^1	89	1.18x 10^1	75
H257S	H117S	1.75x 10^1	77	1.33x 10^1	84
Q366D	Q217D	6.30	28	2.30	15
Q366E	Q217E	2.38x 10^1	105		
Q366N	Q217N	2.26x 10^1	100	1.36x 10^1	86
Q366T	Q217T	2.48x 10^1	110		
Q366S	Q217S	1.02x 10^1	45		
Q366V	Q217V	2.90x 10^1	128	8.36x 10^1	530
A51N	A[51]N			2.07x 10^1	91
V158T/L287T/ M298K	V21T/L144T/M15 6K	4.65	21		
V158D/L287T/ M298K	V21D/L144T/M15 6K	2.50	11		
S52A/S60A	S[52]A/S[60]A			1.68x 10^1	106
T128N/P129A	T[128]N/P[129]A			1.43x 10^1	91
Q286R/ замена	Q143R/замена	4.37x 10^1	193		

Gla FIX	Gla FIX				
Q286R/H257A	Q143R/H117A	1.07x 10^1	47		
Q286R/S222A	Q143R/S82A	1.00x 10^2	444	3.18x 10^1	202
Q286R/S222A/H257A	Q143R/S82A/H117A			9.60x 10	61
Q286R/S222A/замена Gla FIX	Q143R/S82A/замена Gla FIX	1.82x 10^2	804	3.63x 10^1	230
Q286R/S222A/H257A/замена Gla FIX	Q143R/S82A/H117A/замена Gla FIX	2.79x 10^1	123		
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q			3.02x 10^2	1916
Q286R/M298Q/K341Q	Q143R/M156Q/K192Q	1.50x 10^2	665	3.65x 10^2	2319
Q286R/M298Q/K199E	Q143R/M156Q/K60cE	8.69x 10^1	385	2.29x 10^2	1451
P321K	P170iK			1.13x 10^1	71
S222A/M298Q	S82A/M156Q			7.85x 10^2	4981
H257A/M298Q	H117A/M156Q			4.12x 10^1	262
S222A/H257A/Q286R/M298Q	S82A/H117A/Q143R/M156Q	6.09x 10^2	2695	1.90x 10^2	1208
Q286R/M298Q/замена Gla FIX	Q143R/M156Q/замена Gla FIX			7.52x 10^2	4775
Q286R/Q366V	Q143R/Q217V			2.38x 10^1	151
A175S/Q286R/Q366V	A39S/Q143R/Q217V	3.87x 10^1	171	1.23x 10^1	78
S222A/Q286R/Q366V	S82A/Q143R/Q217V			3.21x 10^1	204
Q286M	Q143M	1.07x 10^1	47		
Q286L	Q143L	3.20	14		
Q286Y	Q143Y	9.50x 10^{-1}	4		
Q366I	Q217I	6.29x 10^1	278		
Q366L	Q217L	2.54x 10^1	112		
Q366M	Q217M	4.05x 10^1	179		
Q286R/K341D	Q143R/K192D	1.80	8		
Q286R/Q366D	Q143R/Q217D	1.00	4		
Q286R/Q366N	Q143R/Q217N	2.75	12		
Q286R/M298Q/Q366D	Q143R/M156Q/Q217D	6.80	30		
Q286R/M298Q/Q366N	Q143R/M156Q/Q217N	2.12x 10^1	94		
Q286R/H373F	Q143R/H224F			2.20x 10^1	139
Q286R/M298Q/H373F	Q143R/M156Q/H224F	2.16x 10^2	957	3.17x 10^2	2009
M298Q/H373F	M156Q/H224F			2.36x 10^2	1499
M298Q	M156Q	4.59x 10^2	2029	3.1x 10^2	1969

В других экспериментах, каталитическую активность полипептидов FVIIa, полученных в BHK-21 клетках, исследовали с использованием ТФ-независимого и ТФ-зависимого непрямых анализов, как описано выше, с незначительными изменениями. Несколько вариантов были получены в клетках CHOX в дополнение к BHK-21 клеткам или исключительно в CHOX клетках. Варианты были проанализированы в одинаковых условиях, независимо от использованной линии клеток. Для ТФ-зависимого каталитического анализа (с использованием линейного анализа) активные центры полипептидов FVIIa сначала оттитровали с 4-метилумбеллиферил-p'-гуанидинобензоатом (MUGB) для определения концентрации FVIIa, как описано в примере 12 ниже. Для максимального увеличения количества точек в линейном диапазоне максимальная концентрация FX в анализе составляла 25 нМ (т.е. диапазон составлял 0-25 нМ вместо 0-150 нМ). FX, использованный в анализе, был активирован (т.е. FXa) и титрован флуоресцеин-моно-p'-гуанидинобензоатом (FMGB), как описано в примере 15 ниже. Кинетические константы для расщепления субстрата Spectrafluor FXa были определены с использованием FXa с оттитрованными активными центрами и составили K_M 190,2 мкМ и $k_{кат}$ 340 $с^{-1}$. Основные различия затронули $k_{кат}$ и были обусловлены в основном улучшенным определением активных центров. Эти параметры привели к пересмотренному поправочному коэффициенту k_2, значение которого составило 246,4, который использовали в линейном анализе для определения каталитической активности полипептидов FVIIa в присутствии ТФ.

Для ТФ-независимого каталитического анализа активные центры полипептидов FVIIa сначала оттитровали с 4-метилумбеллиферил-p'-гуанидинобензоатом (MUGB) для определения концентрации FVIIa, как описано в примере 12 ниже. Использованные для анализа FX были активированы (т.е. FXa) и оттитрованы флуоресцеин-моно-p'-гуанидинобензоатом (FMGB), как описано в примере 15. Кинетические константы для расщепления субстрата Spectrafluor FXa были определены с использованием FXa с оттитрованными активными центрами и составили K_M 190,2 мкМ и $k_{кат}$ 340 $с^{-1}$. Эти параметры привели к пересмотренному поправочному коэффициенту k_2, значение которого составило 246,4, который использовали в анализе для определения каталитической активности полипептидов FVIIa в отсутствие ТФ. В табл. 15

приведены каталитические активности каждого из проанализированных вариантов полипептидов FVIIa. Результаты представлены в виде кинетической константы каталитической активности $k_{кат}/K_M$ ($M^{-1}c^{-1}$), а также выражены в процентах от активности FVIIa дикого типа, где активность представляет собой каталитическую активность $k_{кат}/K_M$ (M^{-1} c^{-1}) каждого варианта FVIIa для его субстрата FX. Также приведены стандартное отклонение (SD), коэффициент вариации (% CV; в %) и число исследованных проб (N). Некоторые из вариантов проявляли заметное увеличение каталитической активности по сравнению с полипептидом FVII дикого типа. Например, вариант с заменой Gla из FIX/Q286R/M298Q проявлял ТФ-зависимую каталитическую активность, которая в 6 раз больше, чем активность полипептида FVII дикого типа. Увеличенная каталитическая активность вариантов FVIIa была более выражена при ТФ-независимом анализе. Например, активность варианта с заменой Gla из FIX/Q366V была более чем в 9 раз больше, чем каталитическая активность FVIIa дикого типа, активность вариантов с заменой Gla из FIX/Q286R/M298Q, заменой Gla из FIX/E40LJ/Q286R/M298Q, заменой Gla из FIX/K43I/Q286R/M298Q и заменой Gla из FIX/Q44S/Q286R/M298Q была в 70-80 раз больше, чем каталитическая активность FVIIa дикого типа, а вариант S52A/S60A/V158D/E296V/M1298Q был в 220 раза более каталитически активен, чем FVIIa дикого типа.

Таблица 15

Каталитическая активность вариантов FVIIa

ТФ-зависимый анализ						
Мутация (по нумерации зрелого FVII)	**Мутация (по нумерации химотрипсина)**	**$k_{кат}/K_M$ ($M^{-1}сек^{-1}$)**	**Стандартное отклонение**	**Коэффициент вариации**	**$k_{кат}/K_M$ (% от величины для дикого типа)**	**N**
Дикий тип (NovoSeven®)	Дикий тип (NovoSeven®)	3.98E+07	1.02E+07	26%	106%	30
Дикий тип (NovoSeven-RT®)	Дикий тип (NovoSeven-RT®)	3.48E+07	8.33E+06	24%	93%	10
Дикий тип	Дикий тип	3.75E+07	5.44E+06	15%	100%	13
Дикий тип †	Дикий тип †	3.76E+07	7.09E+06	19%	100%	10
T128N/P129A	T[128]N/P[129]A	4.65E+07	1.09E+07	23%	124%	5
Замена Gla из FIX	Замена Gla из FIX	5.38E+07	9.08E+05	2%	144%	2
K109N	K[109]N	5.54E+07	8.57E+06	15%	148%	2
A122N/G124S	A[122]N/G[124]S	3.87E+07	4.96E+06	13%	103%	2
S52A/S60A	S[52]A/S[60]A	3.56E+07	4.63E+06	13%	95%	2
M298Q	M156Q	6.76E+07	7.38E+06	11%	180%	6
M298Q †	M156Q †	7.46E+07	9.42E+06	13%	198%	4
T128N/P129A/M298Q †	T[128]N/P[129]A/ M156Q †	6.29E+07	1.28E+07	20%	167%	4
V158D/E296V/M298Q	V21D/E154V/M156Q	1.81E+08	4.43E+07	25%	482%	8
V158D/E296V/M298Q †	V21D/E154V/M156Q †	1.65E+08	4.08E+07	25%	441%	10
T128N/P129A/V158D/ E296V/M298Q	T[128]N/P[129]A/V21D /E154V/M156Q	2.01E+08	1.54E+07	8%	537%	4
S52A/S60A/V158D/ E296V/M1298Q	S[52]A/S[60]A/V21D /E154/M156Q	2.00E+08	4.31E+05	0%	532%	2
Q286R	Q143R	8.06E+07	1.43E+07	18%	215%	5
T128N/P129A/Q286R	T[128]N/P[129]A/ Q143R	8.45E+07	1.90E+07	22%	226%	6
T128N/P129A/Q286R †	T[128]N/P[129]A/ Q143R †	6.20E+07			165%	1
S52A/S60A/Q286R	S[52]A/S[60]A/Q143R	4.10E+07	6.71E+06	16%	109%	4
S222A	S82A	4.07E+07	1.17E+07	29%	109%	4
T128N/P129A/S222A	T[128]N/P[129]A/S82A	6.25E+07	6.78E+06	11%	167%	4
S52A/S60A/S222A	S[52]A/S[60]A/S82A	3.91E+07	8.75E+06	22%	104%	3
H257S	H117S	1.18E+08	2.02E+07	17%	316%	2
H373F	H224F	5.58E+07	2.05E+07	37%	149%	2
Q366V	Q217V	5.48E+07	2.69E+06	5%	146%	2
Замена Gla из FIX/ Q366V	Замена Gla из FIX/ Q217V	9.11E+07	2.50E+07	27%	243%	3
A175S	A39S	2.11E+07	6.10E+06	29%	56%	3
K109N/A175S	K[109]N/A39S	1.74E+07	4.29E+06	25%	46%	5
S119N/L121S/A175S	S[119]N/L[121]S/A39S	1.73E+07	1.28E+06	7%	46%	2
T128N/P129A/A175S	T[128]N/P[129]A/A39S	8.59E+06	1.82E+06	21%	23%	2
A122N/G124S/A175S	A[122]N/G[124]S/A39S	1.05E+07	1.12E+06	11%	28%	2
Q286R/H257A	Q143R/H117A	9.91E+07	1.74E+07	18%	264%	2
Q286R/H257A †	Q143R/H117A †	3.08E+07	1.52E+07	49%	82%	4
Q286R/S222A	Q143R/S82A	1.11E+08	3.21E+07	29%	296%	4

Замена Gla из FIX/ T128N/P129A/ S222A/Q286R	Замена Gla из FIX/ T[128]N/P[129]A/ S82A/Q143R	1.47E+08	2.53E+07	17%	393%	3
Замена Gla из FIX/ T128N/P129A/ S222A/Q286R †	Замена Gla из FIX/ T[128]N/P[129]A/ S82A/Q143R †	1.43E+08	1.63E+07	11%	379%	2
Замена Gla из FIX/ S52A/S60A/S222A/ Q286R	Замена Gla из FIX/ S[52]A/S[60]A/S82A/ Q143R	7.24E+07	2.36E+06	3%	193%	2
Q286R/S222A/H257A	Q143R/S82A/H117A	6.98E+07	1.64E+07	23%	186%	3
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	1.66E+08	3.86E+07	23%	442%	14
Q286R/M298Q †	Q143R/M156Q †	1.34E+08	2.37E+07	18%	356%	15
Q286R/M298Q §	Q143R/M156Q §	1.54E+08	3.86E+07	25%	408%	6
Замена Gla из FIX/ Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/ Q143R/M156Q	2.55E+08	6.16E+07	24%	680%	6
Замена Gla из FIX/ Q286R/M298Q †	Замена Gla из FIX/ Q143R/M156Q †	2.30E+08	5.10E+07	22%	613%	4
T128N/P129A/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q	1.86E+08	2.64E+07	14%	497%	6
T128N/P129A/Q286R/ M298Q †	T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q †	1.50E+08	4.16E+07	28%	398%	4
Замена Gla из FIX /T128N/P129A/Q286R/ M298Q	Замена Gla из FIX /T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q	2.11E+08	4.41E+07	21%	562%	3
Замена Gla из FIX /T128N/P129A/Q286R/ M298Q †	Замена Gla из FIX /T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q †	1.99E+08	6.79E+07	34%	529%	5
{Замена Gla из FIX/E40L}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/E[40]L}/ Q143R/M156Q	2.08E+08	4.39E+07	21%	556%	4
{Замена Gla из FIX/K43I}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/K[43]I}/ Q143R/M156Q	2.73E+08	5.21E+07	19%	727%	5
{Замена Gla из FIX/K43I}/ Q286R/M298Q †	{Замена Gla из FIX/K[43]I}/ Q143R/M156Q †	2.91E+08	4.30E+07	15%	774%	5
{Замена Gla из FIX/Q44S}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/Q[44]S}/ Q143R/M156Q	1.98E+08	2.75E+07	14%	529%	3
{Замена Gla из FIX/M19K}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/M[19]K}/ Q143R/M156Q	1.41E+08	5.22E+06	4%	375%	2
S52A/S60A/ Q286R/M298Q	S[52]A/S[60]A/Q143R/ M156Q	1.25E+08	1.14E+07	9%	333%	4
Замена Gla из FIX /S52A/S60A/ Q286R/M298Q †	Замена Gla из FIX /S[52]A/S[60]A/Q143R/ M156Q †	1.80E+08	1.81E+07	10%	480%	3
{Замена Gla из FIX/M19K/E40L/K43I/ Q44S}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/M[19]K/E[40]L/ K[43]I/Q[44]}/Q286R/ M298Q	1.21E+08	7.07E+06	6%	322%	2
{Замена Gla из FIX/K43I}/T128N/ P129A/Q286R/M298Q †	{Замена Gla из FIX/K[43]I}/T128N/ P129A/Q143R/M156Q †	2.71E+08	6.41E+07	24%	720%	5
T239V	T99V	4.64E+07	8.38E+06	18%	124%	2
T239I	T99I	2.62E+07	6.51E+06	25%	70%	2
H257A/ M298Q	H117A/Q143R/M156Q	1.67E+07	4.27E+06	26%	45%	5
S222A/H257A/Q286R/ M298Q	S82A/H117A/Q143R/ M156Q	1.65E+08	1.76E+07	11%	440%	4
T128N/P129A/S222A/ H257A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/S82A /H117A/Q143R/M156Q	1.55E+08	5.77E+07	37%	414%	9
T128N/P129A/S222A/ H257A/Q286R/M298Q †	T[128]N/P[129]A/S82A /H117A/Q143R/M156Q †	1.73E+08	1.41E+07	8%	461%	2
S52A/S60A/S222A/ H257A/Q286R/M298Q	S[52]A/S[60]A/S82A/ H117A/Q143R/M156Q	2.49E+08	8.78E+06	4%	665%	3
H257S/Q286R/Q366V	H117S/Q143R/Q217V	7.10E+07	3.16E+07	44%	189%	11
S222A/H257A/Q286R/ Q366V	S82A/H117A/Q143R/ Q217V	1.00E+08	1.03E+07	10%	268%	4
Q286R/M298Q/Q366N	Q143R/M156Q/Q217N	1.17E+08	3.05E+07	26%	312%	7
T128N/P129A/Q286R/ M298Q/Q366N †	T[129]N/P[129]A/ Q143R/M156Q/Q217N †	1.42E+08	4.17E+07	29%	377%	3
{Замена Gla из FIX/K43I}/Q286R/ M298Q/Q366N †	{Замена Gla из FIX/K43I}/Q143R/ M156Q/Q217N †	1.69E+08	3.89E+07	23%	450%	5
{Замена Gla из FIX/K43I}/T128N/ P129A/Q286R/M298Q/ Q366N †	{Замена Gla из FIX/K43I}/T[128]N/ P[129]A/Q143R/M156Q /Q217N †	2.52E+08	1.36E+07	5%	669%	2
Q286R/H373F	Q143R/H224F	9.01E+07	7.73E+06	9%	240%	2
T128N/P129A/ Q286R/H373F	T[128]N/P[129]A/ Q143R/H224F	6.91E+07	2.15E+07	31%	184%	12
S52A/S60A/ Q286R/H373F	S[52]A/S[60]A/Q143R/ H224F	9.44E+07	1.43E+07	15%	252%	3

Q286R/M298Q/H373F	Q143R/M156Q/H224F	1.36E+08	1.92E+07	14%	364%	5
T128N/P129A/Q286R/ M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/ Q143R/M156Q/H224F	1.33E+08	4.77E+07	36%	354%	17
S52A/S60A/Q286R/ M298Q/H373F	S[52]A/S[60]A/Q143R/ M156Q/H224F	1.77E+08	3.63E+07	21%	472%	3
M298Q/H373F	M156Q/H224F	7.21E+07	1.76E+07	24%	192%	4
T128N/P129A/M298Q/ H373F †	T[128]N/P[129]A/ M156Q/H224F †	6.07E+07	1.29E+07	21%	161%	2
V158D/Q286R/E296V/ M298Q	V21D/Q143R/E154V/ M156Q	1.49E+08	3.59E+07	24%	397%	11
S222A/T239V	S82A/T99V	7.49E+07	2.57E+06	3%	200%	3
Замена Gla из FIX /S222A/T239V/Q286R	Замена Gla из FIX /S82A/T99V/Q143R	2.03E+08	3.16E+07	16%	541%	3
Замена Gla из FIX /S222A/T239V/Q286R †	Замена Gla из FIX /S82A/T99V/Q143R †	9.94E+07	1.83E+07	18%	264%	3
T239V/Q286R/M298Q	T99V/Q143R/M156Q	1.72E+08	4.92E+07	29%	459%	5
Замена Gla из FIX/ T239V/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/ T99V/Q143R/M156Q	2.53E+08	4.78E+07	19%	675%	3
Замена Gla из FIX/ T239V/Q286R/M298Q †	Замена Gla из FIX/ T99V/Q143R/M156Q †	1.79E+08	3.81E+07	21%	477%	4
T128N/P129A/T239V/ Q286R/M298Q †	T[128]N/P[129]A/T99V /Q143R/M156Q †	1.04E+08	2.43E+07	23%	276%	4
S222A/T239V/H257A/ Q286R/M298Q	S82A/T99V/H117A/ Q143R/M156Q	2.14E+08	4.48E+07	21%	571%	5
T128N/P129A/S222A/ T239V/H257A/ Q286R/M298Q †	T[128]N/P[129]A/S82A /T99V/H117A/Q143R/ M156Q †	1.21E+08	5.58E+06	5%	323%	3
T239V/Q286R/H373F	T99V/Q143R/H224F	1.06E+08	1.34E+07	13%	283%	2
T239V/Q286R/M298Q/ H373F	T99V/Q143R/M156Q/ H224F	1.70E+08	1.13E+07	7%	454%	2
T128N/P129A/T239V/Q 286R/M298Q/H373F †	T[128]N/P[129]A/T99V /Q143R/M156Q/H224F †	2.36E+08	2.77E+07	12%	627%	3
V158D/T239I/E296V/ M298Q	V21D/T99I/E154V/ M156Q	1.45E+08	1.18E+07	8%	387%	4
T239I/Q286R	T99I/Q143R	5.79E+07	1.39E+07	24%	155%	3
S222A/T239I	S82A/T99I	3.05E+07	9.26E+06	30%	81%	4
Замена Gla из FIX /S222A/T239I/Q286R	Замена Gla из FIX /S82A/T99I/Q143R	6.77E+07	4.44E+06	7%	181%	2
T239I/Q286R/M298Q	T99I/Q143R/M156Q	1.13E+08	3.68E+06	3%	301%	2
Замена Gla из FIX/ T239I/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX /T99I/Q143R/M156Q	1.25E+08	2.13E+07	17%	334%	2
T128N/P129A/T239I/Q 286R/M298Q †	T[128]N/P[129]A/T99I/ Q143R/M156Q †	8.17E+07	8.17E+06	10%	217%	3
S222A/T239I/H257A/ Q286R/M298Q	S82A/T99I/H117A/ Q143R/M156Q	1.14E+08	2.22E+07	19%	304%	3
T239I/Q286R/H373F	T99I/Q143R/H224F	6.18E+07	9.27E+06	15%	165%	3
V158D/T239V/E296V/ M298Q	V21D/T99V/E154V/ M156Q	2.22E+08	1.39E+07	6%	591%	2
V158D/T239V/E296V/ M298Q †	V21D/T99V/E154V/M1 56Q †	1.65E+08	2.12E+06	1%	438%	2
T239V/Q286R	T99V/Q143R	8.84E+07	7.16E+05	1%	236%	2
T239I/Q286R/M298Q/ H237F	T99I/Q143R/M156Q/ H224F	1.08E+08	2.32E+07	21%	289%	7
T128N/P129A/T239I/Q 286R/M298Q/ H237F †	T[128]N/P[129]A/T99I/ Q143R/M156Q/H224F †	1.30E+08	2.51E+07	19%	345%	5
H257S/Q286R/M298Q	H117S/Q143R/M156Q	1.40E+08	8.97E+06	6%	372%	4
Замена Gla из FIX /Q286R/S222A/H257S	Замена Gla из FIX /Q143R/S82A/H117S	8.53E+07	1.66E+07	20%	227%	3
S222A/H257S/Q286R/ M298Q	S82A/H117S/Q143R/ M156Q	1.58E+08	1.76E+07	11%	420%	2
H257S/Q286R/M298Q/ H373F	H117S/Q143R/M156Q/ H224F	1.52E+08	3.35E+07	22%	407%	7
S222A/Q286R/M298Q/ H373F	S82A/Q143R/M156Q/ H224F	1.48E+08	2.23E+06	2%	395%	2
Замена Gla из FIX/S222A/ Q286R/M298Q/H373F	Замена Gla из FIX S82A/Q143R/M156Q/ H224F	2.84E+08	4.85E+07	17%	758%	3
S222A/Q286R/M298Q	S82A/Q143R/M156Q	1.29E+08	1.86E+07	14%	343%	3
Замена Gla из FIX/ S222A/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX S82A/Q143R/M156Q	2.10E+08	4.28E+07	20%	559%	5
T128N/P129A/A175S/ Q366V	T[128]N/P[129]A/A39S /Q217V	3.38E+07	3.06E+06	9%	90%	2
A122N/G124S/A175S/ Q366V	A[122]N/G[124]S/A39S /Q217V	3.02E+07	7.05E+06	23%	80%	5
T128N/P129A/A175S/ S222A	T[128]N/P[129]A/A39S /S82A	1.72E+07	3.18E+06	18%	46%	3
A122N/G124S/A175S/	A[122]N/G[124]S/A39S /S82A	2.08E+07	5.05E+06	24%	56%	5

S222A						
T128N/P129A/A175S/Q286R	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R	3.33E+07	1.46E+06	4%	89%	3
A122N/G124S/A175S/Q286R	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R	4.11E+07	5.27E+06	13%	110%	5
Замена Gla из FIX/S222A/Q286R/H373F	Замена Gla из FIX/S82A/Q143R/H224F	1.22E+08	3.17E+07	26%	327%	8
V158D/E296V/M298Q/H373F	V21D/E154V/M156Q/H224F	1.51E+08	8.39E+06	6%	402%	3
H257A/Q286R/M298Q	H117A/Q143R/M156Q	1.13E+08	1.55E+07	14%	301%	3
Замена Gla из FIX/T128N/P129A/A175S/S222A/Q286R	Замена Gla из FIX/T[128]N/P[129]A/A39S/S82A/Q143R	3.88E+07	2.74E+06	7%	104%	3
Замена Gla из FIX/A122N/G124S/A175S/S222A/Q286R	Замена Gla из FIX/A[122]N/G[124]S/A39S/S82A/Q143R	4.13E+07	8.99E+06	22%	110%	6
T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R/M156Q	7.21E+07	1.14E+07	16%	192%	3
A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R/M156Q	7.43E+07	1.10E+07	15%	198%	3
T128N/P129A/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/A39S/S82A/H117A/Q143R/M156Q	6.89E+07	3.36E+06	5%	184%	3
A122N/G124S/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q	A[122]N/G[124]S/A39S/S82A/H117A/Q143R/M156Q	8.40E+07	5.72E+06	7%	224%	3
T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R/M156Q/H224F	5.72E+07	3.36E+06	6%	153%	3
A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q/H373F	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R/M156Q/H224F	8.39E+07	9.99E+06	12%	224%	3
V158D/Q286R/E296V/M298Q/H373F	V21D/Q143R/E154V/M156Q/H224F	2.39E+08	3.82E+07	16%	638%	5
M298Q/Q366N/H373F †	M156Q/Q217N/H224F †	7.05E+07	1.78E+07	25%	188%	3
T239V/M298Q/H373F †	T99V/M156Q/H224F †	4.43E+07	1.10E+07	25%	118%	3
T239I/M298Q/H373F †	T99I/M156Q/H224F †	3.47E+07	4.57E+06	13%	92%	3
T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N/H373F †	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/Q217N/H224F †	1.33E+08	1.81E+07	14%	355%	2
T239V/Q286R/M298Q/Q366N †	T99V/Q143R/M156Q/Q217N †	1.85E+08	5.96E+07	32%	491%	4
T239I/Q286R/M298Q/Q366N †	T99I/Q143R/M156Q/Q217N †	7.40E+07	1.40E+07	19%	197%	4

ТФ-зависимый анализ

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	**Мутация (по нумерации химотрипсина)**	**$k_{кат}/K_M$ ($M^{-1}сек^{-1}$)**	**Стандартное отклонение**	**Коэффициент вариации**	**$k_{кат}/K_M$ (% от величины для дикого типа)**	**N**
Дикий тип (NovoSeven®)	Дикий тип (NovoSeven®)	9.8	3.0	30%	88%	14
Дикий тип (NovoSeven-RT®)	Дикий тип (NovoSeven-RT®)	12.4	4.3	35%	112%	12
Дикий тип	Дикий тип	11.1	2.7	25%	100%	5
Дикий тип †	Дикий тип †	6.9	2.2	31%	100%	7
T128N/P129A	T[128]N/P[129]A	17.0	5.2	31%	153%	3
Замена Gla из FIX	Замена Gla из FIX	41.3	3.0	7%	373%	2
A122N/G124S	A[122]N/G[124]S	3.4	0.6	16%	31%	2
S52A/S60A	S[52]A/S[60]A	3.8			34%	1
M298Q †	M156Q †	69.9	49.4	71%	1013%	3
T128N/P129A/M156Q †	T[128]N/P[129]A/M156Q †	90.8	70.8	78%	1316%	5
V158D/E296V/M298Q	V21D/E154V/M156Q	1221.7	307.0	25%	11025%	4
V158D/E296V/M298Q †	V21D/E154V/M156Q †	984.5	308.4	31%	14265%	2
T128N/P129A/V158D/E296V/M298Q	T[128]N/P[129]A/V21D/E154V/M156Q	1375.8	140.3	10%	12415%	3
S52A/S60A/V158D/E296V/M1298Q	S[52]A/S[60]A/V21D/E154V/M156Q	1760.1	575.0	33%	15883%	3
Q286R	Q143R	10.3	0.7	7%	93%	3
T128N/P129A/Q286R	T[128]N/P[129]A/Q143R	8.7	4.3	50%	78%	5
T128N/P129A/Q286R †	T[128]N/P[129]A/Q143R †	10.5	5.6	53%	152%	6
S52A/S60A/S82A	S[52]A/S[60]A/S82A	10.2	4.7	47%	92%	3
T128N/P129A/S222A	T[128]N/P[129]A/S82A	4.8			43%	1
S52A/S60A/S222A	S[52]A/S[60]A/S82A	19.6			177%	1
H257S	H117S	3.1	1.1	35%	28%	7

Q366V	Q217V	4.3	0.6	14%	39%	2
Замена Gla из FIX /Q366V	Замена Gla из FIX /Q217V	90.0	17.7	20%	812%	2
Q286R/H257A	Q143R/H117A	4.3	2.1	49%	39%	3
Q286R/H257A †	Q143R/H117A †	2.5	0.0	0%	36%	2
Замена Gla из FIX/ T128N/P129A/ S222A/Q286R	Замена Gla из FIX/ T[128]N/P[129]A/ S82A/Q143R	15.5	2.9	18%	140%	4
Замена Gla из FIX/ T128N/P129A/ S222A/Q286R †	Замена Gla из FIX/ T[128]N/P[129]A/ S82A/Q143R †	21.3	6.5	31%	309%	5
Замена Gla из FIX/ S52A/S60A/S222A/ Q286R	Замена Gla из FIX/ S[52]A/S[60]A/S82A/ Q143R	2.9			26%	1
Q286R/S222A/H257A	Q143R/S82A/H117A	21.3	6.5	31%	193%	5
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	79.9	18.9	24%	721%	5
Q286R/M298Q †	Q143R/M156Q †	162.4	79.9	49%	2353%	12
Q286R/M298Q §	Q143R/M156Q §	135.1	7.3	5%	1957%	2
Замена Gla из FIX/ Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/ Q143R/M156Q	672.7	79.1	12%	6070%	4
Замена Gla из FIX/ Q286R/M298Q †	Замена Gla из FIX/ Q143R/M156Q †	678.2	249.0	37%	9826%	11
T128N/P129A/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q	81.6	13.4	16%	736%	4
T128N/P129A/Q286R/ M298Q †	T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q †	212.5	135.4	64%	3079%	10
Замена Gla из FIX /T128N/P129A/Q286R/ M298Q	Замена Gla из FIX /T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q	83.8	35.3	42%	756%	6
Замена Gla из FIX /T128N/P129A/Q286R/ M298Q †	Замена Gla из FIX /T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q †	751.9	305.3	41%	10895%	6
{Замена Gla из FIX/E40L}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/E[40]L}/ Q143R/M156Q	814.1	89.0	11%	7346%	2
{Замена Gla из FIX/K43I}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/K[43]I}/ Q143R/M156Q	902.4	360.6	40%	8144%	11
{Замена Gla из FIX/K43I}/ Q286R/M298Q †	{Замена Gla из FIX/K[43]I}/ Q143R/M156Q †	794.2	178.7	23%	11508%	6
{Замена Gla из FIX/Q44S}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/Q[44]S}/ Q143R/M156Q	729.0	4.5	1%	6578%	2
{Замена Gla из FIX/M19K}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/M[19]K}/ Q143R/M156Q	512.0	51.4	10%	4620%	2
S52A/S60A/ Q286R/M298Q	S[52]A/S[60]A/Q143R/ M156Q	216.8	1.6	1%	1956%	2
Замена Gla из FIX/S52A/S60A/ Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/S[52]A/ S[60]A/Q143R/M156Q	988.7	207.5	21%	14327%	2
{Замена Gla из FIX/K43I} /T128N/P129A/Q286R/ M298Q †	{Замена Gla из FIX/K[43]I}/ T[128]N/P[129]A/ Q143R/M156Q †	389.4	34.3	9%	5642%	2
S222A/H257A/Q286R/ M298Q	S82A/H117A/Q143R/ M156Q	345.3	99.9	29%	3116%	3
T128N/P129A/S222A/ H257A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/S82A /H117A/Q143R/M156Q	24.8	17.2	69%	224%	4
T128N/P129A/S222A/ H257A/Q286R/M298Q †	T[128]N/P[129]A/S82A /H117A/Q143R/M156Q †	82.6	40.2	49%	1196%	3
S52A/S60A/S222A/ H257A/Q286R/M298Q	S[52]A/S[60]A/S82A/ H117A/Q143R/M156Q	115.6	62.9	54%	1043%	2
H257S/Q286R/Q366V	H117S/Q143R/Q217V	7.7	1.8	23%	69%	2
S222A/H257A/Q286R/ Q366V	S82A/H117A/Q143R/ Q217V	12.5	2.8	23%	113%	2
Q286R/M298Q/Q366N	Q143R/M156Q/Q217N	65.9	33.4	51%	595%	5
T129N/P129A/Q286R/ M298Q/Q366N †	T[129]N/P[129]A/ Q143R/M156Q/Q217N †	64.6	28.7	44%	936%	4
{Замена Gla из FIX/ K43I}/Q286R/M298Q/ Q217N †	{Замена Gla из FIX/ K[43]I}/Q143R/M156Q /Q217N †	84.9	76.5	90%	1230%	4
{Замена Gla из FIX/K43I} /T128N/P129A/Q286R/ M298Q/Q366N †	{Замена Gla из FIX/ K[43]I}/T[128]N/ P[129]A/Q143R/M156 Q/Q217N †	218.5	137.8	63%	3166%	3
Q286R/H373F	Q143R/H224F	81.6	123.7	152%	736%	9
T128N/P129A/ Q286R/H373F	T[128]N/P[129]A/ Q143R/H224F	6.6	0.9	13%	59%	2
S52A/S60A/Q286R/H37 3F	S[52]A/S[60]A/Q143R/ H224F	30.1			272%	1
Q286R/M298Q/H373F	Q143R/M156Q/H224F	114.8	24.7	22%	1036%	5

T128N/P129A/Q286R/M298Q/H373F †	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/H224F †	30.7	8.9	29%	277%	4
S52A/S60A/Q286R/M298Q/H373F	S[52]A/S[60]A/Q143R/M156Q/H224F	63.3	10.8	17%	571%	3
M298Q/H373F	M156Q/H224F	96.4	47.0	49%	870%	5
T128N/P129A/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/M156Q/H224F	91.6	48.0	52%	1327%	3
V158D/Q286R/E296V/M298Q	V21D/Q143R/E154V/M156Q	1023.9	339.3	33%	9240%	5
S222A/T239V	S82A/T99V	3.0			27%	1
Замена Gla из FIX /S222A/T239V/Q286R	Замена Gla из FIX /S82A/T99V/Q143R	17.4	2.2	13%	157%	3
Замена Gla из FIX /S222A/T239V/Q286R †	Замена Gla из FIX /S82A/T99V/Q143R †	87.9	61.7	70%	1274%	4
T239V/Q286R/M298Q	T99V/Q143R/M156Q	29.3	6.2	21%	264%	4
Замена Gla из FIX/T239V/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/T99V/Q143R/M156Q	277.7	64.2	23%	2506%	3
Замена Gla из FIX/T239V/Q286R/M298Q †	Замена Gla из FIX/T99V/Q143R/M156Q †	902.4	323.5	36%	13076%	6
T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q †	T[128]N/P[129]A/T99V/Q143R/M156Q †	229.7	134.1	58%	3329%	5
S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q	S82A/T99V/H117A/Q143R/M156Q	143.0	93.1	65%	1290%	10
T128N/P129A/S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/S82A/T99V/H117A/Q143R/M156Q	179.0	80.5	45%	2593%	5
T239V/Q286R/H373F	T99V/Q143R/H224F	12.2			110%	1
T239V/Q286R/M298Q/H373F	T99V/Q143R/M156Q/H224F	40.7	5.2	13%	367%	2
T128N/P129A/T99V/Q143R/M156Q/H224F	T[128N]/P129]A/T99V/Q143R/M156Q/H224F	290.0	72.9	25%	4203%	4
V158D/T239I/E296V/M298Q	V21D/T99I/E154V/M156Q	216.3	32.5	15%	1951%	2
T239I/Q286R	T99I/Q143R	4.6	1.3	28%	41%	4
S222A/T239I	S82A/T99I	1.7			15%	1
Замена Gla из FIX /S222A/T239I/Q286R	Замена Gla из FIX /S82A/T99I/Q143R	20.3			184%	1
T239I/Q286R/M298Q	T99I/Q143R/M156Q	11.3	4.0	35%	102%	4
Замена Gla из FIX / T239I/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX /T99I/Q143R/M156Q	244.0	9.6	4%	2202%	2
T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q	T[128N]/P129]A/T99I/Q143R/M156Q	77.8	40.3	52%	1128%	5
S222A/T239I/H257A/Q286R/M298Q	S82A/T99I/H117A/Q143R/M156Q	51.6	5.7	11%	466%	2
V158D/T239V/E296V/M298Q	V21D/T99V/E154V/M156Q	1864.3	374.0	20%	16823%	2
V158D/T239V/E296V/M298Q †	V21D/T99V/E154V/M156Q †	4231.6	913.4	22%	61315%	4
T239V/Q286R	T99V/Q143R	11.8	4.1	35%	106%	4
T239I/Q286R/M298Q/H373F	T99I/Q143R/M156Q/H224F	13.1	3.8	29%	118%	3
T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q/H373F †	T[128]N/P[129]A/T99I/Q143R/M156Q/H224F †	113.3	43.7	39%	1642%	5
H257S/Q286R/M298Q	H117S/Q143R/M156Q	27.4	4.1	15%	247%	4
Замена Gla из FIX /S8222A/H257S/Q143R	Замена Gla из FIX /S82A/H117S/Q143R	20.5	3.6	18%	185%	2
S222A/Q286R/M298Q/H373F	S82A/Q143R/M156Q/H224F	41.7	9.1	22%	376%	4
H257S/Q286R/M298Q/H373F	H117S/Q143R/M156Q/H224F	30.4	9.1	30%	274%	3
S82A/Q143R/M156Q/H224F	S82A/Q143R/M156Q/H224F	430.2	126.8	29%	3883%	3
Замена Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q/H373F	Замена Gla из FIX/S82A/Q143R/M156Q/H224F	192.1	36.8	19%	1733%	2
S222A/Q286R/M298Q	S82A/Q143R/M156Q	252.9	7.4	3%	2282%	2
Замена Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/S82A/Q143R/M156Q	414.7	81.3	20%	3742%	2
T128N/P129A/A175S/Q366V	T[128]N/P[129]A/A39S/Q217V	3.4	1.0	29%	30%	2
A122N/G124S/A175S/Q366V	A[122]N/G[124]S/A39S/Q217V	3.0	0.8	26%	27%	4
T128N/P129A/A175S/S222A	T[128]N/P[129]A/A39S/S82A	1.9	0.5	26%	17%	2
T128N/P129A/A175S/Q286R	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R	3.3	1.2	37%	29%	4
A122N/G124S/A175S/Q286R	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R	3.0	0.7	23%	27%	2

Замена Gla из FIX/ S222A/Q286R/H373F	Замена Gla из FIX/ S82A/Q143R/H224F	81.2	66.7	82%	732%	2
V158D/E296V/M298Q/ H373F	V21D/E154V/M156Q/H 224F	1297.2	486.1	37%	11706%	4
H257A/Q286R/M298Q	H117A/Q143R/M156Q	61.5	43.8	71%	555%	2
Замена Gla из FIX/ T128N/P129A/A175S/S 222A/Q286R	Замена Gla из FIX/ T[128]N/P[129]A/A39S /S82A/Q143R	30.5			276%	1
T128N/P129A/A175S/ S222A/H257A/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/A39S /S82A/H117A/Q143R/ M156Q	20.3	3.8	19%	183%	2
V158D/Q286R/E296V/ M298Q/H373F	V21D/Q143R/E154V /M156Q/H224F	573.6	100.4	18%	5176%	6
M298Q/Q366N/H373F †	M156Q/Q217N/H224F †	125.9	75.2	60%	1825%	4
T239V/M298Q/H373F †	T99V/M156Q/H224F †	319.5	125.0	39%	4629%	6
T239I/M298Q/H373F †	T99I/M156Q/H224F †	138.2	101.9	74%	2003%	7
T128N/P129A/Q286R/ M298Q/Q366N/H373F †	T[128]N/P[129]A/ Q143R/M156Q/Q217N/ H224F †	160.9	43.3	27%	2331%	4
T239V/Q286R/M298Q/ Q366N †	T99V/Q143R/M156Q/ Q217N †	64.2	36.3	57%	931%	3
T239I/Q286R/M298Q/ Q366N †	T99I/Q143R/M156Q/ Q217N †	88.8	23.5	26%	1287%	5

† полученные в клетках CHOX

§ полученные в стабильном клоне 52-5F7 клеточной линии CHOX

Пример 5. Определение ингибирования FVIIa/ТФ или FVIIa AT-III/гепарином.

Силу взаимодействия между комплексом AT-III/гепарин и FVIIa в присутствии или в отсутствие растворимого тканевого фактора (рТФ), т. е. ТФ-зависимо или ТФ-независимо, оценивали путем измерения уровня ингибирования различными концентрациями AT-III каталитической активности FVIIa/рТФ по отношению к субстрату мезил-FPR-ACC. Для каждого исследованного варианта FVIIa была определена величина $K_{0,5}$, которая соответствует молярной концентрации AT-III, которая требуется для 50% ингибирования (IC_{50}) варианта FVIIa в анализе в течение 30 мин при комнатной температуре (25°C). Были проведены два отдельных анализа, один в присутствии рТФ, и один в отсутствие рТФ. 2 мкМ раствор AT-III/гепарина (5 мкМ гепарин) приготовили смешиванием 26,4 мкл 151,7 мкМ AT-III (очищенный из плазмы человеческий AT-III; Molecular Innovations) с 50 мкл 0,2 мМ LMW (низкомолекулярного) гепарина (CalBiochem), 400 мкл 5х буфера (100 мМ Hepes, 750 мМ NaCl, 25 мМ $CaCl_2$, 0,05% БСА, 0,5% ПЭГ 8000, pH 7,4) и 1,523 мл химически чистой воды. Этот раствор использовали в качестве раствора ТФ для ТФ-зависимого анализа с самой высокой концентрацией. Раствор, содержащий 4 мкМ AT-III/гепарин (5 мкМ гепарин), для ТФ-независимого анализа готовили смешиванием 52,8 мкл 151,7 мкМ AT-III (Molecular Innovations) с 50 мкл 0,2 мМ LMW гепарина (CalBiochem), 400 мкл 5 × буфера для анализа и 1,497 мл химически чистой воды. Раствор AT-III/гепарина инкубировали в течение 5-10 мин при комнатной температуре, а затем последовательно разводили в два раза в 96-луночном полипропиленовом планшете с глубокими лунками с окончательным объемом 1 мл с содержанием гепарина 5 мкМ, в результате чего получили разведения 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 и 0 нМ или 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5 и 0 нМ. Варианты FVIIa и FVIIa дикого типа разбавляли до 250 нМ 1 × буфером (20 мМ Hepes, 150 мМ NaCl, 5 мМ $CaCl_2$, 0,01% БСА, 0,1% ПЭГ 8000, pH 7,4). Для ТФ-зависимого анализа был получен 5 нМ FVIIa/50 нМ рТФ комплекс путем смешивания 20 мкл FVIIa с 10 мкл 5 мкМ рТФ (R&D Systems, человеческий фактор свертывания III: # 2339-PA), 200 мкл 5 × буфера для анализа и 770 мкл химически чистой воды и инкубации раствора в течение 10-15 мин при комнатной температуре. Для ТФ-независимого анализа 100 мкл FVIIa смешивали с 200 мкл 5 × буфера для анализа и 700 мкл химически чистой воды с получением 25 нМ раствора FVIIa. Для начала анализа 25 мкл раствора FVIIa/ТФ или FVIIa отдельно смешивали с 25 мкл каждого разведения AT-III/гепарина в лунках 96-луночного черно планшета для анализа формата half area (Nunc). Окончательные условия ТФ-зависимого анализа составляли 2,5 нМ FVIIa/25 нМ рТФ, а концентрация AT-III/гепарина варьировала в пределах от 1000 до 0 нМ. Для ТФ-независимого анализа концентрация FVIIa составляла 12,5 нМ, а концентрация AT-III/гепарина колебались от 2000 до 0 нМ. Планшеты инкубировали в течение 30 мин при встряхивании при комнатной температуре (~25°C).

Исходный раствор субстрата FVIIa (Мезил-FPR-ACC) готовили растворением субстрата в ДМСО до 20 мМ, затем получали рабочий 0,5 мМ раствор в 1 × буфере для анализа. После инкубации планшета в каждую лунку планшета для анализа добавляли 50 мкл субстрата FVIIa. Реакционную смесь перемешивали и остаточную активность FVIIa оценивали после расщепления субстрата в течение 15 мин с помощью планшетного сканера при 30°C.

Для определения степени ингибирования FVIIa или вариантов FVIIa AT-III/гепарином необработанные данные, полученные с помощью приложения SoftMax Pro (Molecular Devices), экспортировали в виде .XML-файлов. Дальнейшие нелинейный анализ данных проводили с помощью пакета программного обеспечения XLfit4 для автоматизированного аппроксимирования кривых и статистического анализа в интерфейсе таблиц Microsoft Excel (IDBS Software). Для расчета последовательных разведений AT-III,

соотношения AT-III к FVIIa и соотношения Vi/Vo для каждого варианта FVIIa с каждой экспериментальной концентрацией AT-III были использованы электронные таблицы. Нелинейный регрессионный анализ зависимости остаточной активности FVIIa (представленный в виде Vi/Vo) от концентрации AT-III обрабатывали с помощью XLfit4 и гиперболического уравнения ингибирования в форме ((C + (Amp*(1-(X/($K_{0.5}$ + X))))); где C - смещение (устанавливали в 0 для экстраполяции наборов данных, которые не достигают 100% ингибирования в ходе анализа), Amp - амплитуда аппроксимации и $K_{0.5}$ соответствует концентрации AT-III, необходимой для достижения половины максимального ингибирования в условиях анализа. Для нескольких вариантов FVIIa AT-III ингибировал менее 20-25% от общей протеазной активности при самой высокой исследованной концентрации AT-III, которая составляет верхний предел обнаружения для анализа. Поэтому варианты с менее чем 20-25% максимальным ингибированием относятся к вариантам с самым низким $K_{0.5}$ (5 мкМ в присутствии ТФ и 10 мкМ без ТФ) и в большинстве случаев, ожидается, что указанные варианты обладают большей устойчивостью к AT-III, чем указанная.

В табл. 16 и 17 представлены результаты анализов, которые проводили с использованием вариантов FVIIa, экспрессированных в Freestyle™ 293-F клетках и/или BHK-21 клетках в присутствии и в отсутствие ТФ соответственно. Результаты представлены в виде параметров аппроксимации $K_{0.5}$ и в виде относительной устойчивости каждого варианта к AT-III по сравнению с FVIIa дикого типа, выражаемой как отношение их значений $K_{0.5}$ ($K_{0.5}$ варианта/$K_{0.5}$ дикого типа). Несколько вариантов FVIIa проявляли повышенную устойчивость к AT-III по сравнению с FVIIa дикого типа. Например, Q286R-FVIIa (т.е. FVIIa, содержащий мутацию Q286R), Q286R/S222A-FVIIa, Q286R/S222A/замена Gla из FIX-FVIIa, A175S/Q286R/Q366V-FVIIa, Q286M-FVIIa, Q286L-FVIIa и Q286Y-FVIIa проявляли устойчивость к AT-III в отсутствие ТФ, которая в 4 раза больше устойчивости FVIIa дикого типа.

Таблица 16

Ингибирование вариантов FVIIa AT-III/гепарином в присутствии ТФ

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	**Мутация (по нумерации химотрипсина)**	**ТФ-зависимый анализ на устойчивость к AT-III**			
		293-F клетки		**BHK-21 клетки**	
		$K_{0.5}$ (нМ)	**$K_{0.5мутанта}$ / $K_{0.5дикого типа}$**	**$K_{0.5}$ (нМ)**	**$K_{0.5мутанта}$ / $K_{0.5дикого типа}$**
Дикий тип	Дикий тип	72.3	1.0	56.0	1.0
V158D/E296V/ M298Q	V21D/E154V/M156Q	75.1	1.0	79.0	1.4
Q286R	Q143R	60.6	0.8	59.1	1.1
S222A	S82A	47.6	0.7	43.9	0.8
H257S	H117S	50.6	0.7	52.9	0.9
H373D	H224D	423.6	5.9		
H373E	H224E	152.1	2.1		
H373S	H224S	64.2	0.9		
H373F	H224F	38.7	0.5		
H373A	H224A	76.9	1.1		
Q366D	Q217D	2239.2	31.0		
Q366E	Q217E	116.2	1.6		
Q366N	Q217N	75.3	1.0		
Q366T	Q217T	57.5	0.8		
Q366S	Q217S	107.2	1.5		
Q366V	Q217V	25.8	0.4	20.0	0.4
A175S	A39S	112.4	1.6		
A122N/G124S	A[122]N/G[124]S	48.2	0.7		
Q286R/S222A	Q143R/S82A			53.3	1.0
Q286R/S222A/ замена Gla FIX	Q143R/S82A/ замена Gla FIX	83.7	1.2		
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q			74.2	1.3
Q286R/M298Q/ K341Q	Q143R/M156Q/ K192Q			21.8	0.4
Q286R/M298Q/ K199E	Q143R/M156Q/ K60cE			101.1	1.8
P321K	P170iK			97.5	1.7
P321E	P170iE			66.0	1.2
P321Y	P170iY			49.5	0.9
P321S	P170iS			60.7	1.1

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	ТФ-зависимый анализ на устойчивость к AT-III			
		293-F клетки		ВНК-21 клетки	
		$K_{0.5}$ (нМ)	$K_{0.5мутанта}$ / $K_{0.5дикого типа}$	$K_{0.5}$ (нМ)	$K_{0.5мутанта}$ / $K_{0.5дикого типа}$
T239S	T99S	254.6	3.5		
T239Q	T99Q			117.2	2.1
T239V	T99V			42.5	0.8
T239L	T99L			81.1	1.4
T239H	T99H			52.0	0.9
T239I	T99I			125.3	2.2
H257A/M298Q	H117A/M156Q			89.1	1.6
S222A/H257A/ Q286R/M298Q	S82A/H117A/Q143R/ M156Q	66.6	0.9		
Q286R/Q366V	Q143R/Q217V			62.0	1.1
A175S/Q286R/ Q366V	A39S/Q143R/Q217V			72.0	1.3
S222A/Q286R/ Q366V	S82A/Q143R/Q217V			38.5	0.7
Q286M	Q143M	53.1	0.7		
Q286L	Q143L	114.4	1.6		
Q286Y	Q143Y	131.3	1.8		
Q366I	Q217I	23.2	0.3		
Q366L	Q217L	23.0	0.3		
Q366M	Q217M	35.4	0.5		

Таблица 17

Ингибирование вариантов FVIIa AT-III/гепарином в отсутствие ТФ

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	ТФ-зависимый анализ на устойчивость к AT-III			
		293-F клетки		ВНК-21 клетки	
		$K_{0.5}$ (нМ)	$K_{0.5мутанта}$ / $K_{0.5дикого типа}$	$K_{0.5}$ (нМ)	$K_{0.5мутанта}$ / $K_{0.5дикого типа}$
Дикий тип	Дикий тип	2265	1.0	2222	1.0
V158D/E296V/ M298Q	V21D/E154V/M156Q	389	0.2	415	0.2
Q286R	Q143R	10000	>4.4	10000	>4.5
S222A	S82A	2338	1.0	2088	0.9
H257S	H117S	5884	2.6	5584	2.5
H373D	H224D	10000	>4.4		
H373E	H224E	6949	3.1		
H373S	H224S	9513	4.2		
H373F	H224F	1306	0.6		
H373A	H224A	10000	>4.4		
Q366D	Q217D	10000	>4.4		
Q366E	Q217E	6901	3.0		
Q366N	Q217N	5186	2.3		
Q366T	Q217T	5885	2.6		
Q366S	Q217S	10000	>4.4		
Q366V	Q217V	487	0.2	531	0.2
A175S	A39S	5785	2.6		
A122N/G124S	A[122]N/G[124]S	2926	1.3		
Q286R/S222A	Q143R/S82A			10000	>4.5
Q286R/S222A/ замена Gla FIX	Q143R/S82A/замена Gla FIX	10000	>4.4		
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q			3663	1.6
Q286R/M298Q/ K341Q	Q143R/M156Q/ K192Q			72	
Q286R/M298Q/ K199E	Q143R/M156Q/ K60cE			5182	2.3
P321K	P170iK			5274	2.4
P321E	P170iE			3666	1.6
P321Y	P170iY			705	0.3
P321S	P170iS			2689	1.2
T239S	T99S	10000	>4.4		
T239Q	T99Q			2222	1.0

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	ТФ-зависимый анализ на устойчивость к АТ-III			
		293-F клетки		ВНК-21 клетки	
		$K_{0.5}$ (нМ)	$K_{0.5мутанта}$ / $K_{0.5дикого типа}$	$K_{0.5}$ (нМ)	$K_{0.5мутанта}$ / $K_{0.5дикого типа}$
T239V	T99V			2644	1.2
T239L	T99L			8532	3.8
T239H	T99H			10000	>4.5
T239I	T99I			10000	>4.5
H257A/M298Q	H117A/M156Q			1344	0.6
S222A/H257A/Q286R/M298Q	S82A/H117A/Q143R/M156Q	7742	3.4		
Q286R/Q366V	Q143R/Q217V			2251	1.0
A175S/Q286R/Q366V	A39S/Q143R/Q217V			10000	>4.5
S222A/Q286R/Q366V	S82A/Q143R/Q217V			3398	1.5
Q286M	Q143M	10000	>4.4		
Q286L	Q143L	10000	>4.4		
Q286Y	Q143Y	10000	>4.4		
Q366I	Q217I	599	0.3		
Q366L	Q217L	1708	0.8		
Q366M	Q217M	914	0.4		

Для оценки ингибирования вариантов FVIIa AT-III/гепарином в отсутствие ТФ был проведен еще один набор экспериментов, как описано выше, но с незначительными изменениями. Для увеличения скорости реакции ингибирования вместо низкомолекулярного гепарина (LMW-гепарина) был использован полноразмерный нефракционированный гепарин (Calbiochem) (см., например, Olson и др., (2004) Thromb Haemost 92(5), 929-939). Инкубационный период анализа был увеличен до 60 мин, а концентрацию мезил-FPR-ACC субстрата, используемого для определения остаточной активности, увеличили до конечной концентрации 0,5 мМ. В табл. 18 приведены результаты анализов, которые проводили в отсутствие ТФ с использованием вариантов FVIIa, экспрессированных в ВНК-21 клетках и CHOX клетках. Результаты представлены в виде параметров аппроксимации $K_{0.5}$ и в виде относительной устойчивости каждого варианта к AT-III по сравнению с FVIIa дикого типа, выражаемой как отношение их значений $K_{0.5}$ ($K_{0.5}$ варианта/$K_{0.5}$ дикого типа). Также приведены величины стандартного отклонения (SD) и количества проб (N).

Таблица 18

Ингибирование вариантов FVIIa AT-III/гепарином в отсутствие ТФ

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	$K_{0.5}$ (нМ)	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	$K_{0.5}$ мутанта/ $K_{0.5}$ дикого типа	N
WT (NovoSeven®)	WT (NovoSeven®)	424.3	70.9	17%	1.08	33
WT (NovoSeven-RT®)	WT (NovoSevenRT®)	424.2	60.5	14%	1.08	5
WT	WT	393.8	67.8	17%	1.00	4
WT †	WT †	503.0	120.0	24%	1.00	4
T128N/P129A	T[128]N/P[129]A	465.3	28.1	6%	1.18	2
замена Gla FIX	замена Gla FIX	298.9			0.76	1
K109N	K[109]N	330.1	72.3	22%	0.84	2
A122N/G124S	A[122]N/G[124]S	372.5	28.6	8%	0.95	2
S52A/S60A	S[52]A/S[60]A	360.6			0.92	1
M298Q	M156Q	120.1	14.1	12%	0.31	5
M298Q †	M156Q †	130.0	14.3	11%	0.26	2
T128N/P129A/M298Q †	T[128]N/P[129]A/M156Q †	143.9	14.5	10%	0.29	2
V158D/E296V/M298Q	V21D/E154V/M156Q	75.5	10.1	13%	0.19	27
V158D/E296V/M298Q †	V21D/E154V/M156Q †	77.4	18.0	23%	0.15	7
T128N/P129A/V158D/E296V/M298Q	T[128]N/P[129]A/V21D/E154V/M156Q	81.6	3.8	5%	0.21	2
S52A/S60A/V158D/E296V/M1298Q	S[52]A/S[60]A/V21D/E154V/M156Q	78.8	2.9	4%	0.20	2
Q286R	Q143R	1085.1	320.0	29%	2.76	20
T128N/P129A/Q286R	T[128]N/P[129]A/Q143R	1645.2	440.2	27%	4.18	9
T128N/P129A/Q286R †	T[128]N/P[129]A/Q143R †	1739.2	467.0	27%	3.46	5
S52A/S60A/Q143R	S[52]A/S[60]A/Q143R	1318.0	376.8	29%	3.35	2
S222A	S82A	383.5	84.4	22%	0.97	3
T128N/P129A/S222A	T[128]N/P[129]A/S82A	401.0			1.02	1
H257S	H117S	722.8			1.84	1
Q366V	Q217V	101.1	24.7	24%	0.26	3

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	$K_{0,5}$ (нМ)	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	$K_{0,5}$ мутанта/ $K_{0,5}$ дикого типа	N
Gla swapFIX/Q366V	Gla swapFIX/Q217V	108.2	5.8	5%	0.27	2
A175S	A39S	1328.0	96.2	7%	3.37	3
K109N/A175S	K[109]N/A39S	2031.8	401.2	20%	5.16	2
S119N/L121S/A175S	S[119]N/L[121]S/A39S	1637.2	171.3	10%	4.16	2
T128N/P129A/A175S	T[128]N/P[129]A/A39S	1392.7	295.3	21%	3.54	2
A122N/G124S/A175S	A[122]N/G[124]S/A39S	1345.8	241.1	18%	3.42	2
Q286R/H257A	Q143R/H117A	2398.7	551.2	23%	6.09	9
Q286R/H257A †	Q143R/H117A †	2800.8	938.4	34%	5.57	5
Q286R/S222A	Q143R/S82A	1203.0	191.2	16%	3.05	2
замена Gla FIX/ T128N/P129A/ S222A/Q286R	замена Gla FIX/ T[128]N/P[129]A/ S82A/Q143R	1703.2	145.2	9%	4.32	2
Q286R/S222A/H257A	Q143R/S82A/H117A	2592.0	806.5	31%	6.58	4
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	299.3	62.9	21%	0.76	7
Q286R/M298Q †	Q143R/M156Q †	287.3	26.6	9%	0.57	20
Q286R/M298Q §	Q143R/M156Q §	395.1	56.4	14%	0.79	3
замена Gla FIX/ Q286R/M298Q	замена Gla FIX/ Q143R/M156Q	281.6	43.2	15%	0.72	3
замена Gla FIX/ Q286R/M298Q †	замена Gla FIX/ Q143R/M156Q †	238.2	21.6	9%	0.47	3
T128N/P129A/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q	283.7	49.4	17%	0.72	13
T128N/P129A/Q286R/ M298Q †	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q †	283.7	77.6	27%	0.56	3
замена Gla FIX /T128N/P129A/Q286R/ M298Q	замена Gla FIX /T[128]N/P[129]A/Q143R/ M156Q	508.2	197.0	39%	1.29	3
замена Gla FIX /T128N/P129A/Q286R/ M298Q †	замена Gla FIX /T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q †	325.2	82.2	25%	0.65	2
{замена Gla FIX/E40L}/ Q286R/M298Q	{замена Gla FIX/E[40]L}/ Q143R/M156Q	286.7	2.4	1%	0.73	2
{замена Gla	{замена Gla	244.3	29.8	12%	0.62	5

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	$K_{0,5}$ (нМ)	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	$K_{0,5}$ мутанта/ $K_{0,5}$ дикого типа	N
FIX/K43I}/ Q286R/M298Q	FIX/K[43]I}/ Q143R/M156Q					
{замена Gla FIX/K43I}/ Q286R/M298Q †	{замена Gla FIX/K[43]I}/ Q143R/M156Q †	219.3	13.7	6%	0.44	2
{замена Gla FIX/Q44S}/ Q286R/M298Q	{замена Gla FIX/Q[44]S}/ Q143R/M156Q	271.4	12.4	5%	0.69	2
{замена Gla FIX/M19K}/ Q286R/M298Q	{замена Gla FIX/M[19]K}/ Q143R/M156Q	309.6			0.79	1
замена Gla FIX /S52A/S60A/ Q286R/M298Q †	замена Gla FIX /S[52]A/S[60]A/Q143R/M156Q †	253.6			0.50	1
{замена Gla FIX/M19K/E40L/K43I/ Q44S}/ Q286R/M298Q	{замена Gla FIX/M[19]K/ E[40]L/ K[43]I/ Q[44]S} /Q143R/M156Q	339.3	100.8	30%	0.86	2
{замена Gla FIX/K43I}/T128N/P129A/ Q286R/M298Q †	{замена Gla FIX/K[43]I}/ T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q †	222.5	10.7	5%	0.44	2
S222A/H257A/Q286R/ M298Q	S82A/H117A/Q143R/ M156Q	313.9			0.80	1
T128N/P129A/S222A/ H257A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/S82A/H117A/Q143R/M156Q	653.0	127.9	20%	1.66	4
T128N/P129A/S222A/ H257A/Q286R/M298Q †	T[128]N/P[129]A/S82A/H117A/Q143R/M156Q †	327.7	23.2	7%	0.65	2
S52A/S60A/S222A/H257A/Q286R/M298Q	S[52]A/S[60]A/S82A/ H117A/Q143R/M156Q	447.6	117.6	26%	1.14	3
Q286R/M298Q/Q366N	Q143R/M156Q/Q217N	324.1	77.9	24%	0.82	3
T128N/P129A/Q286R/ M298Q/Q366N †	T[129]N/P[129]A/Q143R/M156Q/Q217N †	345.8	24.2	7%	0.69	3
{замена Gla FIX/K43I}/Q286R/M298Q/Q366N †	{замена Gla FIX/K[43]I}/Q143R/ M156/Q217N †	404.4	48.0	12%	0.80	3

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	$K_{0,5}$ (нМ)	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	$K_{0,5}$ мутанта/ $K_{0,5}$ дикого типа	N
{замена Gla FIX/K43I}/T[128]N/P[129]A/Q286R/M298Q/Q366N †	{замена Gla FIX/K[43]I}/T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/Q217N †	319.1	71.8	22%	0.63	2
Q286R/H373F	Q143R/H224F	620.8	133.4	3%	1.58	2
T128N/P129A/Q286R/H373F	T[128]N/P[129]A/Q143R/H224F	590.4	104.2	18%	1.50	4
Q286R/M298Q/H373F	Q143R/M156Q/H224F	152.1	7.2	5%	0.39	3
T128N/P129A/Q286R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/H224F	182.6	43.2	24%	0.46	5
M298Q/H373F	M156Q/H224F	81.7	10.5	13%	0.21	2
T128N/P129A/M156Q/H224F †	T[128]N/P[129]A/M156Q/H224F †	89.1	3.8	4%	0.18	2
V21D/Q143R/E154V/M156Q	V21D/Q143R/E154V/M156Q	85.0	14.7	17%	0.22	13
S222A/T239V	S82A/T99V	967.3	282.6	29%	2.46	5
замена Gla FIX/S222A/T239V/Q286R	замена Gla FIX/S82A/T99V/Q143R	2438.4	269.4	11%	6.19	2
замена Gla FIX/S222A/T239V/Q286R †	замена Gla FIX/S82A/T99V/Q143R †	1343.5	507.1	38%	2.67	3
T239V/Q286R/M298Q	T99V/Q143R/M156Q	3626.9	1465.9	40%	9.21	4
замена Gla FIX/T239V/Q286R/M298Q	замена Gla FIX/T99V/Q143R/M156Q	483.7	65.6	14%	1.23	2
замена Gla FIX/T239V/Q286R/M298Q †	замена Gla FIX/T99V/Q143R/M156Q †	314.3			0.62	1
T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q †	T[128]N/P[129]A/T99V/Q143R/M156Q †	266.4	52.1	20%	0.53	2
S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q	S82A/T99V/H117A/Q143R/M156Q	469.3	133.2	28%	1.19	6
T128N/P129A/S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q †	T[128]N/P[129]A/S82A/T99V/H117A/Q143R/M156Q †	326.5	55.3	17%	0.65	2
T239V/Q286R/H373F	T99V/Q143R/H224F	630.6	194.0	31%	1.60	3
T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q/H373F †	T[128N]/P129]A/T99V/Q143R/M156Q/H224F †	121.2	25.8	21%	0.24	4
V158D/T239I/E296V/M298Q	V21D/T99I/E154V/M156Q	179.5	50.5	28%	0.46	5
T239I/Q286R	T99I/Q143R	5823.0	2185.5	38%	14.79	9
S222A/T239I	S82A/T99I	1149.8	12.8	1%	2.92	2
GlaSwapFIX/S222A/T239I/Q286R	замена Gla FIX/S82A/T99I/Q143R	3313.1	130.3	4%	8.41	2
T239I/Q286R/M298Q	T99I/Q143R/M156Q	1611.4	185.9	12%	4.09	2
замена Gla FIX / T239I/Q286R/M298Q	замена Gla FIX/T99I/Q143R/M156Q	1171.3	104.5	9%	2.97	2
T128N/P129A T239I/Q286R/M298Q †	T[128N]/P129]A T99I/Q143R/M156Q †	917.0	60.5	7%	1.82	3
S222A/T239I/H257A/Q286R/M298Q	S82A/T99I/H117A/Q143R/M156Q	1223.6	18.9	2%	3.11	2
T239I/Q286R/H373F	T99I/Q143R/H224F	1007.6	29.8	3%	2.56	2
V158D/T239V/E296V/M298Q	V21D/T99V/E154V/M156Q	67.7	16.6	24%	0.17	4
V158D/T239V/E296V/M298Q †	V21D/T99V/E154V/M156Q †	67.1			0.13	1
T239V/Q286R	T99V/Q143R	1787.9	106.3	6%	4.54	2
T239I/Q286R/M298Q/H237F	T99I/Q143R/M156Q/H224F	370.4	3.0	1%	0.94	2
T128N/P129AT239I/Q286R/M298Q H237F †	T[128]N/P[129]AT99I/Q143R/M156Q/H224F †	316.6	24.7	8%	0.63	2
S222A/H257S/Q286R/M298Q	S82A/H117S/Q143R/M156Q	526.7			1.34	1
S222A/Q286R/M298Q/H373F	S82A/Q143R/M156Q/H224F	163.2	46.9	29%	0.41	4
замена Gla FIX/S222A/Q286R/M298Q/H373F	замена Gla FIX S82A/Q143R/M156Q/H224F	163.5	58.2	36%	0.42	4
S222A/Q286R/M298Q	S82A/Q143R/M156Q	308.4	119.9	39%	0.78	4
замена Gla FIX/S222A/Q286R/M298Q	замена Gla FIX S82A/Q143R/M156Q	266.3	104.2	39%	0.68	4

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	$K_{0,5}$ (нМ)	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	$K_{0,5}$ мутанта/ $K_{0,5}$ дикого типа	N
T128N/P129A/A175S/Q366V	T[128]N/P[129]A/A39S/Q217V	332.6	56.2	17%	0.84	3
A122N/G124S/A175S/Q366V	A[122]N/G[124]S/A39S/Q217V	336.1	11.0	3%	0.85	3
T128N/P129A/A175S/S222A	T[128]N/P[129]A/A39S/S82A	1913.4			4.86	1
A122N/G124S/A175S/S222A	A[122]N/G[124]S/A39S/S82A	1548.6	394.1	25%	3.93	2
T128N/P129A/A175S/Q286R	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R	9545.5	2797.3	29%	24.24	2
A122N/G124S/A175S/Q286R	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R	6923.3			17.58	1
замена Gla FIX/S222A/Q286R/H373F	замена Gla FIX/S82A/Q143R/H224F	587.3	5.1	1%	1.49	2
H257A/Q286R/M298Q	H117A/Q143R/M156Q	390.8			0.99	1
замена Gla FIX/T128N/P129A/A175S/S222A/Q286R	замена Gla FIX/T[128]N/P[129]A/A39S/S82A/Q143R	6486.4	148.2	2%	16.47	2
замена Gla FIX/A122N/G124S/A175S/S222A/Q286R	замена Gla FIX/A[122]N/G[124]S/A39S/S82A/Q143R	5524.0	1434.1	26%	14.03	2
T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R/M156Q	2311.8	520.7	23%	5.87	2
A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R/M156Q	1954.2	450.7	23%	4.96	2
T128N/P129A/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/A39S/S82A/H117A/Q143R/M156Q	3212.9	1140.7	36%	8.16	2
A122N/G124S/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q	A[122]N/G[124]S/A39S/S82A/H117A/Q143R/M156Q	2972.8	751.2	25%	7.55	2
T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/A39S/Q143R/M156Q/H224F	1132.4	441.3	39%	2.88	2
A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q/H373F	A[122]N/G[124]S/A39S/Q143R/M156Q/H224F	1000.1	184.3	18%	2.54	2
V158D/Q286R/E296V/	V21D/Q143R/E154V/	62.1	10.5	17%	0.16	11
M298Q/H373F	M156Q/H224F					
M298Q/Q366N/H373F †	M156Q/Q217N/H224F	90.8	4.8	5%	0.18	2
T239V/M298Q/H373F †	T99V/M156Q/H224F	46.6	7.9	17%	0.09	2
T239I/M298Q/H373F †	T99I/M156Q/H224F	178.7	29.7	17%	0.36	2
T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N/H373F †	T[128]N/P[129]A/Q143R/M156Q/Q217N/H224F	148.3	12.9	9%	0.29	2
T239V/Q286R/M298Q/Q366N †	Q143R/M156Q/Q217N/T99V	252.2	40.9	16%	0.50	2
T239I/Q286R/M298Q/Q366N †	T99I/Q143R/M156Q/Q217N	813.2	105.1	13%	1.62	2

† полученные в клетках CHOX

§ полученные в стабильном клоне 52-5F7 клеточной линии CHOX

Пример 6. In vivo оценка прокоагулянтной активности полипептида FVIIa.

Для оценки прокоагулянтной активности полипептидов FVIIa была создана мышиная модель гемофилии. Гемофилию вызывали у CD-I мышей внутрибрюшинным введением анти-FVIII антител, после этого для начала кровотечения хирургически удаляли кончики хвостов. Также были использованы мыши с дефицитом фактора VIII (FVIII$^-$ мыши), но их не обрабатывали анти-FVIII антителами. Затем мышей обрабатывали полипептидом FVIIa и для определения прокоагулянтной активности полипептидов FVIIa измеряли количество потерянной за 20 мин крови.

A. In vivo оценка прокоагулянтной активности FVIIa дикого типа.

Мышиная модель гемофилии была создана с целью оценки прокоагулянтной активности полипептидов FVIIa. Гемофилию вызывали у CD-I мышей введением анти-FVIII антител, после этого для начала кровотечения хирургически удаляли кончики хвостов. Мышей обрабатывали полипептидом FVIIa и для определения прокоагулянтной активности полипептидов FVIIa измеряли необходимое для остановки кровотечения время и количество потерянной за это время крови.

Самцов CD-I мышей наркотизировали путем внутрибрюшинного введения тиобарбитала натрия в дозе 100 мг/кг и кетамина в дозе 100 мг/кг. Лидокаин вводили подкожно в вентральную часть шеи для уменьшения чувствительности. Трахею и сонную артерию канюлировали через небольшой разрез кожи в

области шеи для облегчения дыхания и неограниченного введения антител к фактору VIII, рекомбинантного человеческого фактора VIIa (rhFVIIa) и/или модифицированных полипептидов FVII.

Канюлированным мышам вводили 3,76 мг овечьих антител против человеческого FVIII (Affinity Biologicals, lot IG129R4, 612 единиц связывания для мыши/мл) в объеме 40 мкл. Эта доза была определена путем проведения подготовительного эксперимента для определения ответа на дозу антитела (с использованием 0,376, 0,94, 1,88 и 3,76 мг антител против человеческого FVIII) с оценкой кровопотери и времени кровотечения. Через 20 мин хвосты мышей помещали в 15 мл пробирки, содержащие фосфатный буферный раствор (PBS) при 39°C, на 10 мин. Через 30 мин хвосты быстро удаляли из раствора PBS и последние 5 мм хвоста отрезали для инициирования кровотечения. Было отмечено время, через которое началось кровотечение. Затем хвосты помещали в пробирку, содержащую PBS при 39°C, и наблюдали кровотечение в течение 5 мин (предварительное кровотечение), чтобы убедиться, что мыши ответили на антитела к FVIII. После предварительного кровотечения мышам вводили полипептиды FVIIa или носитель, в котором полипептиды FVIIa были растворены и введены. Полипептиды FVIIa разводили в PBS буфере или буфере, состоящем из 52 мМ хлористого натрия, 10,2 мМ безводного хлорида кальция, 9,84 мМ глицилглицина, 0,01% полисорбата 80 и 165 мМ маннита. Препараты FVIIa вводили в дозах 1, 3 или 10 мг/кг в объеме, эквивалентном 3 мл/кг, через канюлированную сонную артерию, хвосты помещали в пробирки, содержащие свежий PBS при 39°C. Кровотечение наблюдали в течение 20 мин и отмечали время, за которое кровотечение прекращалось. Общее время кровотечения рассчитывали как сумму длительности предварительного кровотечения и длительности кровотечения после введения полипептидов FVIIa, PBS или буфера.

Для определения количества потерянной во время кровотечений крови, содержимое 15 мл пробирок анализировали на содержание гемоглобина. Тритон X-100 разбавляли 1/4 в стерильной воде и 100 мкл полученного раствора добавляли к 1 мл образца для гемолиза. Поглощение образцов измеряли при длине волны 546 нм. Для вычисления количества потерянной крови поглощение сравнивали со стандартной кривой, полученной измерением поглощения при 546 нм известных объемов мышиной крови, разбавленных PBS и подвергнутых гемолизу с помощью Triton X 100, как описано выше.

Эксперимент проводили для сравнения rhFVIIa, полученных, как описано выше, с коммерчески доступным рекомбинантным человеческим FVIIa (Novoseven®, Ново-Нордиск), потерю крови оценивали после введения 3 мг/кг каждого белка. Потеря крови в группе, которой вводили только носитель (буфер, N=15), составила 671,9±57,89 мкл за 20 мин. Эта величина была уменьшена введением rhFVIIa от Catalyst Biosciences до 264,1±56,59 мкл и до с 273,7±53,93 мкл при введении Novoseven® (N=14). Этот эксперимент показал эквивалентность этих двух белков.

B. Анализ коагулянтной активности вариантов FVIIa у CD-I мышей с индуцированной гемофилией.

В подготовительном эксперименте были определены дозы и время, необходимые для получения гемофилии у CD-I мышей при внутрибрюшинном введении антител против человеческого фактора VIII, и продолжительность такого эффекта. Для первой партии антител против фактора VIII (партия 1; Affinity Biologicals, lot IG129R4) при определении доз изначально исходили из доз, использованных в экспериментах с канюлированием, описанных выше. Доза, вызывающая гемофилическое состояние (неконтролируемое кровотечение в течение 20-минутного периода анализа), составляла 7,54 мг/мышь (80 мкл 94,25 мг/мл исходного раствора). Данная партия антител обладала нейтрализующей активностью 612 единиц связывания для мыши/мл. Для второй партии антител против человеческого FVIII (партия 2; Affinity Biologicals, lot IG1577R2, нейтрализующая активность 474 единиц связывания для мышьи/мл) использовали дозу 11,98 мг/мышь (120 мкл 99,8 мг/мл исходного раствора), которую вводили за 6 ч до обрезания хвоста.

Для индуцирования гемофилии самцам мышей CD-I (массой 25-35 г) до эксперимента внутрибрюшинно вводили антитела против фактора VIII из партии 1 или партии 2. Самцов CD-I и $FVIII^-$ мышей наркотизировали путем внутрибрюшинного введения смеси кетамин/ксилазин (45 мг/мл и 3,6 мг/мл, соответственно, в физиологическом растворе) и размещали на платформе с подогревом (39°C) для уверенности в отсутствии падения температуры тела. Температура в процедурной составляла 82°F (27,8°C). За 10 мин до отрезания хвоста его погрузили на 10 мин в предварительно подогретый PBS (15 мл пробирка для центрифугирования; 39°C). 8-10 мышам через хвостовую вену одной инъекцией вводили рекомбинантный человеческий FVIIa (Novoseven®, Ново Нордиск) или модифицированные полипептиды FVII, разведенные в буфере, состоящем из 52 мМ хлористого натрия, 10,2 мМ безводного хлорида кальция, 9,84 мМ глицилглицина, 0,01% полисорбата 80 и 165 мМ маннита. В качестве контроля группе мышей вводили только носитель. Если инъекция была пропущена, животное исключали из исследования. Инъекции полипептида FVIIa или носителя были осуществлены за 5 мин до обрезания хвоста. Хвост обрезали лезвием бритвы за 5 мм от конца хвоста, кровь собирали в PBS в течение 20 мин. После сбора крови оценивали полную потерю крови. Содержимое пробирок, в которые собирали кровь, смешали, аликвоты 1 мл каждого образца отобрали и анализировали на содержание гемоглобина. Тритон X-100 разбавляли 1/4 в стерильной воде и 100 мкл полученного раствора добавляли к 1 мл образца для гемолиза. Поглощение образцов измеряли при длине волны 546 нм. Для вычисления количества потерянной крови погло-

щение сравнивали со стандартной кривой, полученной измерением поглощения при 546 нм известных объемов мышиной крови, разбавленных PBS и подвергнутых гемолизу с помощью Triton X 100, как описано выше.

1. Исследование зависимости ответа от дозы для оценки коагулянтной активности FVIIa дикого типа.

Было проведено исследование зависимости ответа от дозы при 0,3, 1 или 3 мг/кг FVIIa дикого типа. Мыши, которые получили только носитель, потеряли 1002,3±60,71 мкл крови за 20 мин анализа. Кровопотеря у мышей, которым вводили 3 мг/кг FVIIa дикого типа, была существенно меньше и составляла 415,5±90,85 мкл ($p < 0,05$ с использованием критерия Крускала-Уоллиса и затем теста Данна). Уменьшение дозы до 1 мг/кг привело к потере крови 679,57±83,95 мкл, и кровопотеря при более низкой дозе 0,3 мг/кг составила 852,42±94,46 мкл.

2. Начальный анализ коагулянтной активности вариантов FVIIa.

В качестве контроля вводили только носитель. Мыши, которые получили только носитель, потеряли 915,2±105,6 мкл за 20 мин анализа, кровопотеря уменьшилась до 352±99,86 мкл (среднее ± стандартное отклонение среднего) при введении мышам рекомбинантного человеческого FVIIa. Количество потерянной крови уменьшалось еще сильнее до 165,8±48,41 мкл при введении мышам Q286R-FVIIa (т.е. FVIIa, содержащего мутацию Q286R), до 141,3±43,77 мкл при введении Q286R/M298Q-FVIIa или до 129,5±36,64 мкл при введении V158D/E296V/M298Q-FVIIa. При введении мышам S222A-FVIIa потеря крови также уменьшилась (до 225,7±62,75 мкл) по сравнению с введением FVIIa дикого типа. Введение (замена Gla из FIX)-FVIIa, Q366V-FVIIa или A122N/G124S- FVIIa привело к примерно такой же кровопотере, как и при введении мышам рекомбинантного человеческого FVIIa (334,6±54,95 мкл, 321,7±102,6 мкл и 329,8±83,91 мкл соответственно), в то время как кровопотеря у мышей, которым вводили H257A-FVIIa, S222A/Q286R-FVIIa, H257A-FVIIa была несколько большей (390±107 мкл, 447,3±127,7 мкл и 443,7±139,5 мкл соответственно).

3. Исследование зависимости ответа от доз для оценки коагулянтной активности варианта FVIIa.

Для исследования зависимости ответа от доз мышам вводили 0,1, 0,3, 1 или 3 мг/кг Q286R-FVIIa, S222-FVIIa, Q286R/M298Q-FVIIa или V158D/E296V/M298Q-FVIIa. Мыши, которые получили только носитель, потеряли 915,2±105,6 мкл крови за 20 мин анализа. Кровопотеря значительно уменьшилась у мышей, которым вводили 3 мг/кг любого из Q286R-FVIIa (141,3±43,77 мкл), S222-FVIIa (225,7±62,75 мкл) или Q286R/M298Q-FVIIa (129,5±36,64 мкл) ($p < 0,05$ с использованием критерия Крускала-Уоллиса и затем теста Данна). Уменьшение дозы до 1 мг/кг привело к потере крови 641±96,48 мкл у мышей, которые получили Q286R-FVIIa, и 487,92±92,07 мкл у мышей, которые получили S222A-FVIIa. Более низкие дозы указанных вариантов FVIIa привели приблизительно к такой же потере крови (817,71±107,94 мкл и 900,34±115,77 мкл для Q286R-FVIIa и S222-FVIIa соответственно), как у мышей, которым вводили носитель. Напротив, у мышей, получивших 1 мг/кг Q286R/M298Q-FVIIa, произошло достоверное снижение потери крови (69,36±15,55 мкл) по сравнению с контрольной группой мышей, которым ввели только носитель. При более низких дозах, 0,3 и 0,1 мг/кг, потеря крови составила 538,3±94,04 и 664±121,6 мкл соответственно. У мышей, получавших 0,3, 1 и 3 мг/кг V158D/E296V/M298Q-FVIIa, кровопотеря составила 754,49±121,6, 481,95±114,22 и 133,25±50,09 мкл соответственно.

Для Q286R-FVIIa, Q286R/M298Q-FVIIa и V158D/E296V/M298Q-FVIIa были проведены дополнительные исследования зависимости ответа от дозы и полученные данные были совмещены с приведенными выше. В экспериментах для оценки эффекта Q286R-FVIIa получавшая носитель группа потеряла 833,61±73,95 мкл крови. Кровопотеря значительно уменьшилась до 196,71±49,18 мкл у мышей, которые получали 3 мг/кг Q286R-FVIIa. Уменьшение дозы до 1 мг/кг приводило к потере крови 577,78±66,29 мкл. При введении мышам 0,1 и 0,3 мг/кг Q286R-FVIIa потеря крови была аналогична потере крови при введении носителя (739,58±104,28 и 806,63±65,17 мкл соответственно).

В экспериментах для оценки эффекта Q286R/M298Q- FVIIa получавшая носитель группа потеряла 902,42±88,04 мкл крови, кровопотеря значительно уменьшилась до 145,17±38,89 и 140,76±33,36 мкл при введении 1 и 3 мг/кг Q286R/M298Q-FVIIa. Уменьшение дозы до 0,1 и 0,3 мг/кг привело к потере крови 664,03±121,62 и 551,94±67,60 мкл соответственно.

В экспериментах для оценки эффекта V158D/E296V/M298Q-FVIIa получавшая носитель группа потеряла 966,64±57,97 мкл крови, кровопотеря значительно уменьшилась до 128,19±27,73 мкл при введении V158D/E296V/M298Q-FVIIa в дозе 3 мг/кг. Уменьшение дозы до 1 мг/кг привело к кровопотере 565,50±65,78 мкл, а при дальнейшем уменьшении дозы до 0,3 и 0,1 мг/кг потеря крови была аналогична потере крови при введении носителя (811,16±71,87 и 893,62±106,73 мкл).

Был проведен статистический анализ Крускала-Уоллиса, а затем тест Данна, значение считали достоверным при $p < 0,05$.

4. Коагулянтная активность H216A-FVIIa, H373F-FVIIa, Q366D-FVIIa и Q366N-FVIIa в дозе 3 мг/кг.

Была проведена серия экспериментов для исследования H216A-FVIIa, H373F-FVIIa, Q366D-FVIIa и Q366N-FVIIa в дозе 3 мг/кг. В качестве контроля мышам вводили только носитель. Мыши, которые получили носитель, потеряли 915,2±105,6 мкл крови за 20 мин анализа. Кровопотеря значительно уменьшилась до 211,1±67,70 мкл при введении мышам H373F-FVIIa. Потеря крови меньше изменилась при введении H216A-FVIIa, Q366D-FVIIa и Q366N-FVIIa и составила 558,6±66,22, 577,1±151,4 и 477,1±112,6

мкл соответственно.

4. Коагулянтная активность Q286R/M298Q/замена Gla из FIX-FVIIa, S222A/H257A/Q286R/M158Q-FVIIa, Q286R/M298Q/K341D-FVIIa и Q286R/M298Q/H373F-FVIIa в дозе 3 мг/кг.

Коагулянтную активность Q286R/M298Q/замена Gla из FIX-FVIIa, S222A/H257A/Q286R/M158Q-FVIIa, Q286R/M298Q/K34 ID-FVIIa и Q286R/M298Q/H373F-FVIIa в дозе 3 мг/кг оценивали на модели гемофилии на CD-I мышах. В качестве контроля мышам вводили только носитель. Мыши, которые получали носитель, потеряли 803±92,18 мкл крови за 20 мин анализа. Кровопотеря значительно уменьшилась до 118,6±63,27 мкл при введении S222A/H257A/Q286R/M158Q-FVIIa. Обработка Q286R/M298Q/ замена из Gla FIX-FVIIa в дозе 3 мг/кг привела к уменьшению потери крови по сравнению с группой, в которой вводили носитель, с 888,89±104,76 до 171,83±62,06 мкл.

При экспериментальной оценке Q286R/M298Q/K341D-FVIIa и Q286R/M298Q/H373F-FVIIa потеря крови в группе с носителем составила 813,1±82,66 мкл. Кровопотеря уменьшилась до 39,42±5,53 мкл после введения Q286R/M298Q/H373F-FVIIa. Q286R/M298Q/K341D-FVIIa при анализе оказался менее эффективным, потеря крови составила 636,7±121,6 мкл.

5. Исследование зависимости ответа от дозы для оценки коагулянтной активности S222A/H257A/Q286R/M158Q-FVIIa и Q286R/M298Q/H373F-FVHa.

Исследовали ответ на S222A/H257A/Q286R/M158Q-FVIIa в дозе 0,3, 0,5, 1 и 3 мг/кг. Мыши, которые получали носитель, потеряли 832,48±71,70 мкл крови за 20 мин анализа. Кровопотеря статистически значимо уменьшилась до 118,63±63,27 мкл при введении 3 мг/кг S222A/H257A/Q286R/M158Q-FVIIa, ($p < 0,05$ с использованием критерия Крускала-Уоллиса и затем теста Данна). Уменьшение дозы до 1 и 0,5 мг/кг привело к значительному снижению потери крови (202,69±77,60 и 366,52±106,21 мкл), а более низкая доза 0,3 мг/кг привела к потере крови, сравнимой с уровнем для носителя (742,04±112 мкл).

Также в эксперименте оценивали ответ на Q286R/M298Q/H373F-FVIIa в дозе 0,1, 0,3, 1 и 3 мг/кг. Мыши, которые получали носитель, потеряли 813,15±82,66 мкл крови. Кровопотеря статистически значимо уменьшилась до 39,42±5,52 мкл при введении 3 мг/кг Q286R/M298Q/H373F-FVIIa ($p <0,05$ с использованием критерия Крускала-Уоллиса и затем теста Данна). Уменьшение дозы до 1 и 0,3 мг/кг привело к потере крови 208,10±105,12 и 508,9±155,8 мкл соответственно. Самая низкая исследованная доза 0,1 мг/кг привела к потере крови, сравнимой с уровнем для носителя (733,5±152,88 мкл).

С. Анализ коагулянта активности FVIIa у $FVIII^-$ мышей.

Для оценки коагулянтной активности полипептидов FVIIa также была использована мышиная модель гемофилии А с использованием мышей с дефицитом фактора VIII ($FVIII^-$ мышей), в анализе использовали те же протоколы, как описано выше, за тем исключением, что мышам не вводили анти-FVIII антитела.

1. Исследование зависимости ответа от дозы для оценки коагулянтной активности FVIIa дикого типа.

На $FVIII^-$ мышах был выполнен анализ зависимости ответа от дозы для оценки коагулянтной активности Novoseven® и rhFVIIa дикого типа в дозе 0,3, 1, 3 и 6 мг/кг. В эксперименте с Novoseven® потеря крови в группе с носителем составила 912,79±38,32 мкл, при введении Novoseven® в дозе 6 и 3 мг/кг кровопотеря статистически значимо уменьшилась до 361,74±55,28 и 586,98±60,56 мкл соответственно ($p<0,05$ с использованием критерия Крускала-Уоллиса и затем теста Данна). Уменьшение дозы до 1 мг/кг привело к потере крови 674,84±46,88 мкл, при самой низкой исследованной дозе потеря крови составила 801,08±41,39 мкл.

В эксперименте с rhFVIIa дикого типа потеря крови в группе с носителем составила 904,08±15,38 мкл. Кровопотеря статистически значимо уменьшилась до 451,04±74,17 мкл ($p <0,05$ с использованием критерия Крускала-Уоллиса и затем теста Данна) при введении rhFVIIa дикого типа в дозе 6 мг/кг. Уменьшение дозы до 3 мг/кг привело к значению кровопотери 695,75±60,50 мкл, при дальнейшем снижении дозы до 1 и 0,3 мг/кг потеря крови была сравнима с потерей крови при введении носителя (846,08±34,17 и 936,43±31,39 мкл соответственно).

2. Исследование зависимости ответа от дозы для определения коагулянтной активности Q143R-FVIIa, S222A-FVIIa, Q286R/M298Q-FVIIa и V158D/E296V/M298Q-FVIIa.

В первой серии экспериментов исследовали рекомбинантный человеческий FVIIa (Novoseven®, Ново Нордиск), V158D/E296V/M298Q-FVIIa, Q286R-FVIIa и S222A-FVIIa в дозе 3 мг/кг. В качестве контроля мышам вводили только носитель. У мышей, получавших только носитель, кровопотеря составила 942,9±27,37 мкл за 20 мин анализа. Введение Novoseven® FVII, V158D/E296V/M298Q-FVIIa, Q143R-FVIIa и S222A-FVIIa привело к уменьшению потери крови до 468±55,9, 302,38±73,12, 697,26±92,22 и 675,07±35,29 мкл соответственно. При исследовании Q143R-FVIIa на $FVIII^-$ мышах в дозе 3 мг/кг снижение потери крови составило 754,84±60,96 мкл по сравнению с контрольной группой, в которой вводили только носитель (935,54±51,96 мкл). В дозе 5 мг/кг Q143R-FVIIa приводит к дальнейшему уменьшению потери крови до 445,87±79,62 мкл по сравнению с группой, в которой вводили носитель (960,42±24,5 мкл).

Во второй серии экспериментов исследовали зависимость ответа от дозы для V158D/E296V/M298Q-FVIIa и Q286R/M298Q-FVIIa в дозе 0,3, 1 и 3 мг/кг. Введение V158D/E296V/M298Q-FVIIa в дозе 3 мг/кг

привело к статистически значимому снижению потери крови (375,62±74,22 мкл) по сравнению с введением носителя (960,42±24,5 мкл, p <0,05 с использованием критерия Крускала-Уоллиса и затем теста Данна). Уменьшение дозы до 1 и 0,3 мг/кг привело к потере крови, близкой к контрольному уровню, 834,76±54,38 и 841,62±68,99 мкл соответственно. Во втором эксперименте оценивали различные партии V158D/E296V/M298Q-FVIIa, потеря крови при введении носителя составила 912,79±38,32 мкл, кровопотеря статистически значимо уменьшалась при введении 3 и 1 мг/кг (247,24±35,17 и 628,30±37,36 мкл, p<0,05 с использованием критерия Крускала-Уоллиса и затем теста Данна). Введение низкой дозы V158D/E296V/M298Q-FVIIa приводит к потере крови, близкой контрольным значениям (841,85±19,32 мкл). В эксперименте для оценки влияния Q286R/M298Q-FVIIa на FVIII$^-$ мышах, кровопотеря в группе, в которой вводили носитель, составила 941,39±35,18 мкл. Кровопотеря значительно уменьшалась при введении 3 мг/кг до 258,92±59,82 мкл. При более низких дозах 1 и 0,3 мг/кг уровни потери крови составили 616,82±78.43мкл и 924,9±38,01 мкл соответственно.

D. Анализ коагулянтной активности дополнительных вариантов FVIIa с использованием моделей индуцированной гемофилии.

Коагулянтную активность нескольких вариантов FVIIa оценивали с помощью модели индуцированной гемофилии (IHM) на CD-I мышах, описанной в примере 6.B выше. При исследовании использовали тот же протокол, как описано выше, за тем исключением, что для оценки варианта T128N/P129A-FVIIa и варианта M156Q/H224F-FVIIa использовали различные партии антител против человеческого FVIII (третья и четвертая партии соответственно). Для третьей партии антител против человеческого FVIII (партия 3; Affinity Biologicals, lot IG1 603R1, нейтрализующая активность 418 единиц связывания для мыши/мл) использовали дозу 12,17 мг/мышь (120 мкл 101,4 мг/мл исходного раствора), которую вводили за 18 ч до обрезания хвоста. Для четвертой партии антител против человеческого FVIII (партия 4; Affinity Biologicals, lot IG 1639R1, нейтрализующая активность 875 единиц связывания для мыши/мл) использовали дозу 8,04 мг/мышь (80 мкл 100,45 мг/мл исходного раствора). Потерю крови измеряли, как описано выше, полученные данные представлены в табл. 19 ниже как процент ингибирования (рассчитывали среднее значение для интересующего варианта и делили на значение для группы, в которой вводили носитель) и значение ED50 (полуэффективная доза) (определяли с помощью нелинейного регрессионного анализа с использованием GraphPad Prism®, GraphPad Software, Inc.), максимум и минимум кривой ответа ограничены потерей крови в группе с введением носителя и потерей крови у нормальных контрольных животных, соответственно.

Таблица 19

Мутация (по нумерации зрелого FVII))	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Потеря крови в модели индуцированной гемофилии; % ингибирования (1,5 мг/кг)	N	Потеря крови в модели индуцированной гемофилии; ED50 (мг/кг)	N
Дий тип (NovoSeven®)	Дий тип (NovoSeven®)	61	1	0.7	1
Дий тип	Дий тип	59	1	0.75	1
T128N/P129A	T[128]N/P[129]A	78	1	0.5	1
замена Gla FIX	замена Gla FIX	63	1		
A122N/G124S	A[122]N/ G[124]S	64	1		
V158D/E296V/ M298Q	V21D/E154V/ M156Q	86	3	0.5	3
Q286R	Q143R	76	2	0.55	2
S222A	S82A	75	1	0.45	1
H257S	H117S	50	1		
H373F	H224F	78	1		
Q366V	Q217V	64	1		
A175S	A39S	58	1		
K109N/A175S	K[109]N/A39S	60	1		
Q286R/H257A	Q143R/H117A	58	1		
Q286R/S222A	Q143R/S82A	50	1		
Q286R/S222A/ H257A	Q143R/S82A/ H117A	68	1		
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	85	2	0.15	2
Q286R/M298Q †	Q143R/M156Q †	89	1	0.16	2
Замена Gla FIX/ Q286R/M298Q	Замена Gla FIX/ Q143R/M156Q	83	2	0.13	1
S222A/H257A/ Q286R/ M298Q	S82A/H117A/ Q143R/M156Q	85	1	0.2	1
H257S/Q286R/ Q366V	H117S/Q143R/ Q217V	46	1		
S222A/H257A/ Q286R/ Q366V	S82A/H117A/ Q143R/Q217V	49	1		
Q286R/M298Q/ Q366N	Q143R/M156Q/ Q217N	88	1		
Q286R/H373F	Q143R/H224F	75	1		
Q286R/M298Q/ H373F	Q143R/M156Q/ H224F	95	1	0.15	1
M298Q/H373F	M156Q/H224F	95	1	0.21	1
Замена Gla FIX/S222A/Q286R	Замена Gla FIX/S82A/ Q143R	85	1	0.4	1
V158D/Q286R/ E296V/M298Q	V21D/Q143R/ E154V/M156Q	95	1		
T128N/P129A/ Q286R/H373F	T[128]N/P[129]A /Q143R/H224F/	70	1		

† полипептид FVIIa, полученный в клетках CHOX

E. Анализ коагулянтной активности дополнительных вариантов FVIIa с использованием модели

индуцированной гемофилии.

Коагулянтную активность нескольких вариантов FVIIa оценивали с помощью модели индуцированной гемофилии (IHM) на CD-I мышах, описанной в примере 6.B выше. При исследовании использовали тот же протокол, как описано выше, за тем исключением, что были использованы партии 4-6 анти-FVIII антител. Партия 4 описана выше, для пятой партии (Лот 5; Affinity Biologicals, lot IG1593R2, нейтрализующая активность 255 единиц связывания для мыши/мл) использовали дозу 12,25 мг/мышь (120 мкл из 102,1 мг/мл исходного раствора), которую вводили за 6 ч до отрезания хвоста. Для шестой партии (партия 6; Affinity Biologicals, lot IG1703R2, нейтрализующая активность 685 единиц связывания для мыши/мл) использовали дозу 8,02 мг/мышь (80 мкл 100,2 мг/мл исходного раствора), которую вводили в 4 ч дня в день, предшествующий дню эксперимента. Потерю крови измеряли, как описано выше, результаты представлены ниже в табл. 20 как процент ингибирования (рассчитывали среднее значение для интересующего варианта и делили на значение для группы, в которой вводили носитель) и значение ED50 (определяли с помощью нелинейного регрессионного анализа с использованием GraphPad Prism®, GraphPad Software, Inc.), максимум и минимум кривой ответа ограничены потерей крови в группе с введением носителя и потерей крови у нормальных контрольных животных соответственно. "N/группу" относится к количеству мышей в группе, в то время как "N" в отношении расчета ED50 относится к количеству экспериментов, выполненных с вариантом.

Таблица 20

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	**Мутация (по нумерации химотрипсина)**	**Потеря крови в модели индуцирован-ной гемофилии; % ингибирования при каждой дозе**			**N / группу**	**Потеря крови в модели индуцирован ной гемофи-лии; ED50 (мг/кг)**	**N**
		Доза (мг/кг)					
		0.1	**0.3**	**1**			
H257A/Q286R	H117A/Q143R			53	7-10		
M298Q	M156Q	37	81	87	7-10	0.11	1
M298Q/T128N/ P129A	M156Q/T[128]N/ P[129]A	39	79	93	7-9	0.1	1
Q286R/T128N/ P129A	Q143R/T[128]N/ P[129]A	32	42	58	6-8	0.27	1
Замена Gla из FIX/ T128N/P129A /S222A/Q286R	Замена Gla из FIX/ T[128]N/P[129]A /S82A/Q143R	27	45	62	6-8	0.27	
Мутация (по нумерации зрелого FVII)	**Мутация (по нумерации химотрипсина)**	**Потеря крови в модели индуцирован-ной гемофилии; % ингибирования при каждой дозе**			**N / группу**	**Потеря крови в модели индуцирован ной гемофи-лии; ED50 (мг/кг)**	**N**
		Доза (мг/кг)					
		0.1	**0.3**	**1**			
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	33	57	89	9-10	0.15	1
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	35	57	94	8-10	0.13	1
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	32	62	95	8-9	0.14	1
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	44	65	95	9	0.09	1
Замена Gla из FIX /Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX /Q143R/M156Q	35,	57	80	7-10	0.14	1
T128N/P129A/Q286 R/M298Q	T[128]N/P[129]A/ Q143R/M156Q	47,	83	91	9-14	0.1	1
Замена Gla из FIX /T128N/P129A /Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX /T[128]N/P[129]A /Q143R/M156Q	15	71	96	7-9	0.17	1
{Замена Gla из FIX /K43I}/Q286R/ M298Q	{Замена Gla из FIX /K[43]I}/Q143R/ M156Q	49	65	80	7-9	0.08	1
Замена Gla из FIX / S52A/S60A/ Q286R/M298Q/	Замена Gla из FIX / S[52]A/S[60]A/ Q143R/M156Q/	38	71	88 †	9-10	0.11	1
{Замена Gla из FIX /K43I}/T128N/P129 A/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX /K[43]I}/ T[128]N/ P[129]A/Q143R/ M156Q	23	58	84	9	0.17	1
S222A/H257A/Q286 R/M298Q/ T128N/P129A	S82A/H117A/Q143R/ M156Q/ T[128]N/P[129]A	24	71	96	7-8	0.15	1
Q286R/M298Q/ Q366N	Q143R/M156Q/ Q217N	41	79	96	7-8 только носитель n=17	0.1	1
T128N/P129A/ Q286R/M298Q/ Q366N	T[128]N/P[129]A/ Q143R/M156Q/ Q217N	40	53	84	6-8	0.09	1
{Замена Gla из FIX /K43I}/T128N/P129 A/ Q286R/M298Q/ Q366N/	{Замена Gla из FIX /K[43]I}/ T[128]N/ P[129]A/Q143R/ M156Q /Q217N	39	81	94	8-10	0.1	1

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Потеря крови в модели индуцирован-ной гемофилии; % ингибирования при каждой дозе			N / группу	Потеря крови в модели индуцирован ной гемофи-лии; ED50 (мг/кг)	N
		Доза (мг/кг)					
		0.1	0.3	1			
T128N/P129A/Q286R/H373F	T[128]N/P[129]A/Q143R/H224F		26		7-9		
T128N/P129A/Q286R/M298Q/ H373F	T[128]N/P[129]A /Q143R/M156Q/ H224F	43	42	87	6-13	0.12	1
M298Q/H373F	M156Q/H224F	27	46	82	7-8	0.21	1
T128N/P129A/ M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/ M156Q/ H224F	48	77	85†	8-10	0.09	1
V158D/E296V/ M298Q/Q286R	V21D/E154V/M156Q /Q143R	27,	61	95	7-8	0.16	1
Замена Gla из FIX /S222A/Q286R/ T239V	Замена Gla из FIX /S82A/Q143R/T99V	30,	32	60	8-9	0.36	1
Q286R/M298Q/ T239V	Q143R/M156Q/T99V	21	67	92	7	0.16	1
Замена Gla из FIX /Q286R/M298Q/ T239V	Замена Gla из FIX /Q143R/M156Q/ T99V	16	69	90	7-9	0.17	1
T128N/P129A/ T239V/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129] A/T99V/Q143R/ M156Q/	29	63	91	9	0.15	1
S222A/T239V/H257A /Q286R/M298Q	S82A/T99V/H117A/ Q143R/M156Q/	38	63	94	7-8	0.12	1
T128N/P129A/S222A/T239V/H257A/ Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/S82A/T99V/H117A/ Q143R/M156Q	44	75	79	7-9	0.09	1
T128N/P129A/ T239V/Q286R/ M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/ T99V/Q143R/M156Q/ H224F	51	75	88	8-10	0.08	1
V158D/T239I /E296V/M298Q	V21D/T99I /E154V/M156Q	45	48	85	7-9	0.11	1
T128N/P129A/ T239I/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/ T99I/Q143R/M156Q	20	61	82	8-10	0.18	1
V158D/T239V/	V21D/T99V/E154V/	23	52	86	8-9	0.19	1

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Потеря крови в модели индуцирован-ной гемофилии; % ингибирования при каждой дозе			N / группу	Потеря крови в модели индуцирован ной гемофи-лии; ED50 (мг/кг)	N
		Доза (мг/кг)					
		0.1	0.3	1			
E296V/M298Q	M156Q						
T128N/P129A/T239I/ Q286R/M298Q/ H373F/	T[128]N/P[129]A/ T99I/Q143R/M156Q/ H224F	36	67	73	8-10	0.11	1
M298Q/Q366N/ H373F	M156Q/Q217N/H224F	33	80	88	8-10	0.11	1
T239V/M298Q/ H373F	T99V/M156Q/H224F	50	68	84	7-9 Только носитель n=16	0.07	1
T239I/M298Q/ H373F	T99I/M156Q/H224F	56	74	96	9-10	0.07	1
T128N/P129A/ Q286R/M298Q/ Q366N/H373F	T[128]N/P[129]A/ Q143R/M156Q/ Q217N/H224F	51	87	92	7-9	0.1	1
T239V/Q286R/ M298Q/Q366N	T99V/Q143R/M156Q/ Q217N	45	62	80	7-9	0.08	1
T239I/Q286R /M298Q/Q366N	T99I/Q143R/M156Q/ Q217N	8	34	79	8-9	0.34	1

† доза 0,6 мг/кг

Пример 7. Определение кинетических параметров Михаэлиса-Ментен для амидолитической активности FVIIa для низкомолекулярного субстрата.

Амидолитическая активность вариантов FVII может быть оценена путем измерения кинетических параметров Михаэлиса-Ментен полипептида FVIIa для пептидного субстрата Spectrozyme FVIIa (CH_3SO_2-D-CHA-But-Arg-pNA.AcOH). Такой анализ может быть выполнен следующим образом. Для обеспечения оптимальной активности FVIIa в анализ может быть включен связанный с липидами очищенный человеческий тканевый фактор (Innovin, Dade Behring, VWR Cat # 68100-390). Комплекс ТФ-FVIIa расщепляет Spectrozyme FVIIa как весьма специфический хромогенный субстрат с высвобождени-

ем паранитроанилинового хромофора (pNA), содержание которого можно определять, измеряя поглощение при 405 нм. Активность ферментов определяли, измеряя абсорбцию свободного pNA при 405 нм как функциию времени.

Реакцию осуществляли при трех различных концентрациях фермента. Для реакции варианты FVIIa сначала разбавляли до 40 нМ в 1 × прямом буфере для анализа (100 мМ Трис pH 8,4, 100 мМ NaCl, 5 мМ $CaCl_2$, 0,01% БСА) в 1,7 мл пробирке (низкоадгезионные пробирки для центрифугирования от ISC Bioexpress). Затем FVIIa разбавляли в присутствии ТФ (Innovin, Dade Behring) до 2 нМ в 12-луночном полипропиленовом планшете (Axygen) следующим образом: смешивали 720 мкл 5 × прямого буфера (500 мМ Трис pH 8,4, 500 мМ NaCl, 25 мМ $CaCl_2$, 0,05% БСА), 180 мкл 40 нМ FVIIa и 2700 мкл 2 × ТФ (6 нМ исходный раствор, восстановленный в 10 мл воды). Разбавленную протеазу инкубировали в течение 5 мин при комнатной температуре. Исходный 2 нМ раствор FVIIa далее последовательно разводили в 2 раза также в присутствии ТФ с получением 1 и 0,5 нМ растворов протеазы соответственно. Реакционную среду готовили следующим образом: сначала 1800 мкл 2 нМ исходного раствора FVIIa/ТФ разводили в 360 мкл 5 × прямого буфера, 900 мкл 2 × ТФ, и 540 мкл воды. Этот разбавленный раствор снова разбавляли 1:1 в 1800 мкл 1 × ТФ в прямом буфере.

В планшете приготовили разведения субстрата Spectrozyme FVIIa (American Diagnostica). Исходный раствор Spectrozyme FVIIa готовили восстановлением 50 мкмоль содержимого флакона в дистиллированной воде до 10 мМ и хранили при 4°C. 80 мкл (10 мМ Spectrozyme FVIIa) и 60 мкл 10 мМ Spectrozyme FVIIa + 20 мкл воды (7,5 мМ Spectrozyme FVIIa) добавляли в лунки в двух соседних столбцах 96-луночного полипропиленового планшета для анализа (Costar). Содержимое двух лунок последовательно разводили в 2 раза в каждой из 8 лунок соответствующего столбца, что привело к серии из 10х концентраций субстрата от 10 мМ до 78 мкМ субстрата сверху вниз в лунках в первом столбце и от 7,5 мМ до 58,6 мкМ субстрата сверху вниз в лунках во втором столбце. Пять мкл разведения субстрата Spectrozyme FVIIa добавляли в 96-луночный прозрачный планшет для анализа формата half area (Costar). 45 мкл каждого из трех разведений FVIIa/ТФ добавляли в три группы столбцов с последовательными разведениями субстрата. На этом этапе принимались меры, чтобы избежать введения пузырьков в лунки для анализа. Если пузырьки были введены, они могут быть удалены покалыванием чистой иглой перед началом каждого анализа. Содержимое планшетов затем перемешали встряхиванием. До начала анализа длину оптического пути в лунках для анализа измеряли с помощью планшетного спектрофотометра Spectramax Gemini M5 (Molecular Devices), при измерении в конечной точке и использовании функции Pathcheck из программного обеспечения SoftMax Pro (Molecular Devices). Увеличение абсорбции при 405 нм измеряли каждые 30 с в течение 1 ч при 37°C.

Программное обеспечение SoftMax Pro использовали для преобразования величин абсорбции (единиц оптической плотности/с) в концентрацию отщепленного pNA (мкМ/с) с помощью величины оптического пути и коэффициента молярной экстинкции уходящей группы pNA при 405 нм, 9600 $M^{-1}см^{-1}$. Уравнение для преобразования выглядит следующим образом: скорость × (1/60×1000)×(1/9600 × длина оптического пути) × 100000. На основании результатов для каждой концентрации протеазы строили график с использованием программного обеспечения Graph Pad Prism, откладывая концентрацию субстрата на оси X и измеренные скорости мкМ/с на оси Y. Величины K_M и Y_{max} определяли с использованием программного обеспечения Graph Pad Prism 4, аппроксимируя данные уравнением Михаэлиса-Ментен следующим образом:

$$Y = (k_{KAT}K_м/1000000) \times X \times [E])/(1 + (X + K_M),$$

где X представляет собой концентрацию субстрата, мкМ,

Y представляет собой активность фермента, мкМ/с,

$k_{KAT}K_M$ представляет собой константу специфичности, $M^{-1}c^{-1}$,

K_M представляет собой константу Михаэлиса, мкМ,

E представляет собой концентрацию фермента, мкМ.

Были установлены начальные значения E = 1, K_M = X при 0,5 × Y_{max} и k_{KAT} K_M = 1000.

Пример 8. Оценка активности взаимодействия между вариантами FVIIa и TFPI.

Активность взаимодействия между полипептидами FVIIa, такими как, например, предусмотренные в настоящем документе, и TFPI, может быть оценена с использованием одного или более анализов. В одном примере, активность взаимодействия между TFPI и FVIIa/ТФ комплексом оценивали путем измерения уровня ингибирования каталитической активности FVIIa/ТФ для субстрата, Spectrazyme VIIa, различными концентрациями TFPI. В другом примере может быть использован высокопроизводительный поверхностный плазмонный резонанс (SPR).

A. Определение IC_{50} для ингибирования FVIIa/ТФ TFPI.

Активность взаимодействия между TFPI и FVIIa/ТФ комплексом была оценена путем измерения уровня ингибирования каталитической активности FVIIa/ТФ для субстрата, Spectrazyme VIIa, различными концентрациями TFPI. Концентрацию TFPI, которая требуется для 50% ингибирования (IC_{50}), рассчитывали для каждого варианта FVII и стандарта FVIIa.

В каждую лунку 96-луночного прозрачного планшета для анализа формата half area (Nunc) предва-

рительно обрабатывали 150 мкл/лунку 1 × планшетным буфером (100 мМ Трис pH 8,4, 100 мМ NaCl, 0,01% БСА, 0,01% твин-20) и инкубировали планшеты при 37 С в течение как минимум 1 ч. Буфер полностью удаляли встряхиванием и промоканием планшета, для удаления оставшегося буфера планшеты центрифугировали вверх дном. Планшеты сушили на воздухе в течение 1 ч и хранили при комнатной температуре (RT). В 1,7 мл пробирке (низкоадгезионная пробирка от ISC Bioexpress) готовили смесь FVIIa/ТФ в общем объеме 450 мкл путем смешивания 9 мкл 250 нм FVIIa (American Diagnostica, FVIIa дикого типа или соответствующий вариант, предназначенный для исследования) с 337,5 мкл 2 × ТФ (Innovin; Dade Behring; лиофилизированный продукт суспендировали в 10 мл дистиллированной воды с получением 2 × ТФ, что примерно эквивалентно 7 нМ связанного с липидами ТФ), 90 мкл 5 × буфера (500 мМ Трис pH 8,4, 500 мМ NaCl, 25 мМ $CaCl_2$, 0,05% БСА) и 13,5 мкл воды, в результате чего получили раствор, содержащий 5 нМ FVIIa и 5,2 нМ ТФ. Для образования компонентами комплекса смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 5 мин. В каждую лунку 2 колонок в предварительно обработанного 96-луночного прозрачного планшета для анализа формата half area добавили 25 мкл соответствующей смеси FVIIa/рТФ, планшет закрыли для предотвращения испарения.

Рекомбинантный человеческий TFPI (R&D Systems) сначала растворили в 33 мкл 50% глицерина (об./об.) с получением 10 мкМ исходного раствора для хранения при -20°С. Исходный раствор TFPI далее разбавляли до 1,5 мкМ в окончательном 1 × буфере (100 мМ Трис pH 8,4, 100 мМ NaCl, 5 мМ $CaCl_2$, 0,01% БСА) в полипропиленовом планшете для хранения следующим образом: для каждой исследуемой протеазы 87,5 мкл 1,5 мкМ раствора TFPI получали смешиванием 13,1 мкл 10 мкМ TFPI с 17,5 мкл 5 × буфера для анализа и 56,9 мкл дистиллированной воды. Были приготовлены последовательные 3-кратные разведения раствора TFPI в 1× буфере для анализа путем смешивания 27,5 мкл TFPI с 55 мкл 1× буфера для анализа, так что были получены растворы, содержащие 750, 250, 83,3, 27,8, 9,26, 3,1 и 1,03 нМ TFPI. Последняя лунка содержала только 1× буфер в качестве контроля.

25 мкл каждого разведения TFPI добавляли в 2 лунки (т.е. в двух повторностях) в 2 колонки 96-луночного прозрачного планшета для анализа, содержащего FVIIa/ТФ смесь, так что смесь с протеазой исследовали в двух повторностях с каждым разбавлением TFPI. Раствор 1× буфера без TFPI также добавили в 2 лунки, содержащие FVIIa/ТФ смесь, в качестве отрицательного контроля. Планшеты быстро перемешивали, а затем центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 мин и инкубировали при 37°С в течение 1,5 ч.

Исходный раствор Spectrazyme VIIa (American Diagnostica) приготовили восстановлением 50 мкмоль субстрата в 5 мл дистиллированной воды до 10 мМ и хранили при 4°С до использования. Непосредственно перед использованием раствор разбавляли до 600 мкМ в дистиллированной воде. После инкубации планшета анализа, описанного выше, в каждую лунку добавляли 10 мкл разбавленного Spectrazyme VIIa. Реакционную смесь перемешали и планшеты инкубировали при 37°С. Увеличение абсорбции при 405 нм измеряли каждые 30 с в течение 1 ч при 37°С, скорость изменения поглощения рассчитывали с использованием программного обеспечения SoftMax Pro (Molecular Devices).

Для определения степени ингибирования TFPI скорости изменения абсорбции в протеазной реакции в присутствии TFPI сначала делили на скорость изменения абсорбции в реакции в отсутствие TFPI (контрольный образец) и получали относительную активность, также определяли $\log_{10}$ каждой концентрации TFPI. С использованием программного обеспечения GraphPad Prism $\log_{10}$[TFPI] откладывали против относительной активности каждой протеазы, таким образом была получена кривая доза-ответ, при аппроксимации прямой предполагали, что максимум и минимум значений активности фиксируются в 1 и 0 соответственно. Для определения ингибирования TFPI в виде $\log_{10}C_{50}$ (pIC_{50}) значения и абсолютного значения IC_{50} (ингибирование TFPI в нМ) для каждой протеазы, и определения его среднего значения и стандартного отклонения было использовано программное обеспечение.

Уровень ингибирования TFPI каждого из вариантов FVIIa в комплексе со связанном с липидами ТФ (Innovin; Dade Behring) был определен и выражен как увеличение устойчивости к TFPI в некоторое количество раз по сравнению с FVIIa дикого типа (табл. 21).

Таблица 21

Ингибирование вариантов FVIIa TFPI

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Кратная устойчивость к TFPI
дикий тип	дикий тип	1.0
A292N/A294S	A150N/A152S	2.4
A175S	A39S	1.5
K109N	K[109]N	0.7
A122N/G124S	A[122]N/G[124]S	1.1
A122N/G124S/E394N/P395A/R396S	A[122]N/G[124]S/E245N/P246A/ R247S	1.0

B. Исследование вариантов FVIIa на устойчивость к воздействию TFPI методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR).

Относительную устойчивость различных вариантов FVIIa к ингибированию человеческим рекомбинантным растворимым TFPI оценивали с помощью высокоэффективного поверхностного плазмонного резонанса (SPR) на биосенсоре Biacore T100. Относительную устойчивость вариантов FVIIa к ингибированию TFPI оценивали путем измерения относительного количества варианта FVIIa, связанного с растворимым TFPI, иммобилизованным на сенсорном чипе CM5 Biacore, по сравнению с количеством связанного FVIIa дикого типа при стандартизированном времени введения и концентрации протеазы.

Для каждого эксперимента растворимый TFPI (R&D Systems) иммобилизовали на новом сенсорном чипе 4-поточной ячейки Biacore CM5 Series S (GE Healthcare) с использованием протокола связывания аминогруппы, доступного в программном обеспечении для Biacore T-100 (GE Healthcare), и реагентов, содержащихся в комплекте для связывания аминогрупп Amine Coupling Kit (GE Healthcare). Все четыре доступных проточных ячейки использовали для иммобилизации двух различных плотностей TFPI и бычьего сывороточного альбумина (БСА), который служил блокирующим агентом в указанных ячейках. БСА разбавляли до 5 мкг/мл в ацетате натрия (pH 4,0) и иммобилизовали в проточной ячейке до 1 и 3 в 1000 и 2000 единиц ответа (RU) соответственно. Для иммобилизации TFPI лиофилизированный растворимый TFPI (10 мкг) ресуспендировали в 100 мкл 1× буфера для иммобилизации (30 мМ Hepes, 135 мм NaCl, 1 мМ ЭДТА, 0,01% Твин-20, pH 7,4) до концентрации 0,1 мг/мл. В общей сложности 20 мкл 0,1 мг/мл TFPI разбавляли до 10 мкг/мл в ацетате натрия pH 4,0 для иммобилизации в проточной ячейке до 2 и 4 в 1000 и 2000 RU соответственно. Буфер для иммобилизации использовали в качестве рабочего буфера во время иммобилизации. Каждый образец FVIIa готовили в конечной концентрации 320 нМ в IX рабочем буфере (20 мМ Hepes, 150 мМ NaCl, 5 мМ $CaCl_2$, 0,1% ПЭГ 8000, 0,1% БСА, 0,01% Твин-20, pH 7,4), содержащем 620 нМ рТФ (Human Coagulation Factor III, R & D Systems). Как правило, каждый вариант FVIIa разбавляли в 10 раз в 1 × рабочем буфере до окончательного разведения 320 нМ. Комплекс FVIIa/рТФ готовили в конечном объеме 120 мкл в двух повторностях, что позволяло внести в 96-луночный планшет для хранения и исследовать с повторяющимися введениями за один проход до 48 уникальных вариантов FVIIa. Комплексы FVIIa/рТФ инкубировали при комнатной температуре в течение 10-15 мин до первого введения образца.

С применением программного обеспечения Biacore Control Software (GE Healthcare) разработали стандартизированный анализ связывания, в котором каждую повторность FVIIa вводят на 180 с для ассоциации с последующими 60 с для диссоциации при скорости потока 10 мкл/мин. Регенерацию сенсорного чипа после фазы диссоциации проводили в течение 30 с 10 мМ глицином, 500 мМ NaCl, pH 3,0, после чего следовал 60-секундный период стабилизации при пропускании IX рабочего буфера при той же скорости потока 10 мкл/мин. При каждом пропускании раствора и последующем анализе данных записывали значения в двух точках, одно за 5 с до завершения фазы ассоциации (связывания), а второе за 5 с до завершения фазы диссоциации. До начала полного анализа сенсорный чип проверяли с помощью одного введения 320 нМ FVIIa/рТФ дикого типа на 180 с, которое должно дать ответ приблизительно 400-450 RU и 750-850 RU в проточных ячейках 2 (1000 RU) и 4 (200 RU) соответственно.

Для проверки параметров анализа, включая проверку того, что связывание с указанной ячейкой является минимальным, проверку дрейфа базовой линии и связывания при контрольном введении (рабочего буфера), анализ данных проводили с помощью программного обеспечения Biacore T1OO Evaluation Software (GE Healthcare). Для этой цели были составлены таблицы с данными, в которых указывали количество связанного варианта FVIIa (в RU) точке связывания и точке диссоциации. Данные таблицы впоследствии экспортировали для дальнейшего анализа в таблицы Microsoft Excel. Необработанные данные (связывание в RU) корректировали с учетом связывания с сенсорным чипом в контроле, затем для каждого параметра было вычислено отношение количества связанного FVIIa дикого типа (в RU) к количеству связанного варианта FVIIa (в RU) и приведено как связывание (дикий тип/вариант) и диссоциация (дикий тип/вариант). В табл. 22 представлены результаты исследования. Устойчивость к ингибированию

TFPI отражается как увеличение отношения для одного или обоих оцениваемых параметров. Например, значение 20 для связывания (дикий тип/вариант) или диссоциации (дикий тип/вариант) для конкретного варианта FVIIa указывает, что вариант в 20 раза более устойчив к ингибированию TFPI по сравнению с FVIIa дикого типа. Несколько исследованных вариантов проявляли повышенную устойчивостью к ингибированию TFPI. Например, варианты, содержащие мутацию K341D (по нумерации зрелого FVII), такие как Q286R/M298Q/K341D-FVIIa, Q286R/K341D-FVIIa и M298Q/K341D-FVIIa, обладали отношением, которое указывает на значительную устойчивость TFPI (большую в 40-150 раз). В некоторых случаях скорость диссоциации была изменена больше, чем скорость ассоциации.

Пример 9. Фармакокинетический анализ полипептидов FVIIa.

Фармакокинетические свойства полипептидов FVIIa оценивали путем измерения количества человеческого фактора VIIa в мышиной плазме. Для количественной оценки FVIIa в плазме могут быть использованы два анализа. Для количественной оценки общего содержания FVIIa в плазме мыши может быть использован ИФА, а для количественной оценки коагулянтной активности полипептидов FVIIa в плазме может быть использован FVIIa-зависимый анализ свертывания (FVIIaAC).

A. Введение FVIIa полипептидов мышам.

В фармакокинетических исследованиях оценивали модифицированные полипептиды FVIIa и немодифицированный рекомбинантный человеческий FVIIa (rhFVIIa) (Novoseven®, Ново Нордиск). Для каждого исследования 18 самцам CD-I мышей вводили внутривенно болюс (0,1-3,0 мг/кг в зависимости от исследования) с rFVIIa. Через 5, 15, 30, 60, 120 и 240 мин после инъекции трех мышей в каждой исследуемой группе умерщвляли удушением CO_2, и в 1,0 мл шприц с помощью чрескожной сердечной пункции отбирали около 1,0 мл крови. В каждый шприц предварительно набирали достаточное количество цитрата натрия для достижения конечной концентрации 3,2% в 1 мл крови. Образцы крови затем центрифугировали при 9000 об/мин в течение 8 мин при 4°C. Плазму переливали в отдельные подписанные 1,5 мл пробирки (Эппендорф), быстро замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C. Кроме того, в каждом эксперименте одной мыши вводили только носитель, плазму от такой мыши использовали для определения фоновой активности FVIIa.

B. ИФА.

Для обнаружения белка FVII в сыворотке крови методом ИФА использовали имеющийся в продаже комплект Imubind® Factor VII ELISA (American Diagnostica). В комплект включен планшет, предварительно покрытый анти-FVII/FVIIa антителами для связывания белка, и биотинилированные анти-FVII антитела для обнаружения меченой стрептавидином пероксидазой хрена. Комплект использовали в соответствии с инструкциями производителя со следующими исключениями: во-первых, диапазон стандартной кривой был сужен для уверенности в линейности зависимости во всем диапазоне концентраций и охватывал концентрации от 0,88 нг/мл до 10 нг/мл, во-вторых, для построения стандартной кривой использовали сам очищенный вариант FVIIa, а не стандартный FVII, поставляемый в наборе, из-за различий в аффинности к антителам. Эксперименты показали, что комплекс FVIIa с антитромбином III (ATIII), мощным ингибитором FVIIa в плазме, обнаруживается в 75% от уровня свободной протеазы, что гарантировало, что анализ может обнаружить общий FVIIa в образце плазмы в активный и неактивной форме. Образцы плазмы разморозили при комнатной температуре и разбавляли в 10 раз в буфере для образцов (PBS+0,1% Тритон X-100+1,0% БСА), затем последовательно разбавляли в 5,5 раз с получением четырех разведений. Четыре разбавленных образца разбавляли в 2 раза в планшете для ИФА для окончательного разведения образца в 20, 110, 605 и 3327,5 раза. Эти четыре разведения мышиной плазмы покрывали диапазон концентраций протеазы от 33000 до 20 нг/мл. Каждый образец измеряли на двух отдельных планшетах для анализа, и измерения, попадающие в диапазон стандартной кривой, были использованы для расчета концентрации вариантов FVIIa в образце плазмы.

C. Анализ коагуляции.

Для анализа свертывания был использован коммерчески доступный комплект (STACLOT FVIIa-RTФ, Diagnostica Stago, Parsippany, штат Нью-Джерси). Для определения коагулянтной активности активных полипептидов FVIIa образцы плазмы анализировали с использованием FVIIa-зависимого анализа свертывания (FVIIaAC). Анализ проводили с использованием реактивов и инструкций, содержащихся в коммерческом комплекте, время свертывания крови измеряется с помощью электромеханического прибора обнаружения сгустка (STArt4, Diagnostica Stago, Parsippany, штат Нью-Джерси). Комплект использовали в соответствии с инструкциями производителя со следующими исключениями: во-первых, для построения стандартной кривой использовали сам очищенный вариант FVIIa, а не стандартный rhFVII, поставляемый в наборе, во-вторых, для рутинных фармакокинетических исследований использовали следующие коммерчески доступные реагенты, которые давали сопоставимые результаты: растворимый тканевый фактор (Calbiochem, La Jolla, Калифорния), смесь синтетических фосфолипидов (Avanti Polar Lipids, Alabaster, Алабама), буфер TBSA (Трис-NaCl, pH 7,5 с 1% БСА; DiaPharma, West Chester, штат Огайо) и 25 мкМ раствор хлорида кальция (Diagnostica Stago, Parsippany, штат Нью-Джерси).

Анализ коагуляции проводили следующим образом. Замороженные образцы плазмы размораживали при комнатной температуре в течение примерно 45 мин, а затем разводили 1:5000 в буфере. 50 мкл

разбавленной плазмы смешивали с 50 мкл фактор VII-дефицитной человеческой плазмы и 50 мкл связанного с липидами тканевого фактора и предварительно инкубировали в течение 180 с. После предварительной инкубации для инициации свертывания к смеси добавили 50 мкл раствора хлорида кальция (25 мкМ). Время свертывания крови определяли с помощью электромеханического обнаружения сгустка. Каждый образец плазмы исследовали в двух повторностях. Система была откалибрована с помощью построения стандартной кривой с использованием времени свертывания для последовательных разведений буфера, содержащих известное количество специфического варианта FVIIa, подвергающегося анализу. Концентрации FVIIa в образцах плазмы мыши рассчитывали по линейной части стандартной кривой зависимости logFVIIa от log времени свертывания. Способность образцов плазмы вызывать свертывание в фактор VII-дефицитной плазме определяли в нг FVIIa/мл плазмы мыши после вычитания фонового уровня эндогенного FVIIa дикого типа в плазме у мышей контрольной группы.

Период полураспада каждого белка FVII определяли обычной аппроксимацией натурального логарифма активности прямой линией и измерением времени, необходимого для уменьшения активности белка FVIIa на половину. Для белков FVII с мультиэкспоненциальным распадом период полураспада определяли по последней фазе профиля зависимости log концентрации в плазме против времени. Дополнительные фармакокинетические параметры рассчитывали следующим образом: плазменную $AUC_{0\text{-}inf}$/доза (рассчитывали как $[AUC_{(0\text{-}t)} + Ct/(\ln 2/T_{1/2})]$, где t представляет собой последний момент времени с измеримой концентрацией полипептида FVIIa в плазме, деленный на внутривенную дозу (мг/кг)); период полураспада (период полураспада полипептида FVIIa последней фазе профиля зависимости концентрации FVIIa в плазме от времени; $T_{1/2}$ рассчитывали как -ln2, деленный на отрицательный наклон последней фазы кривой log-линейной зависимости концентрации FVIIa в плазме от времени); $MRT_{0\text{-}last}$ (среднее время нахождения полипептида FVIIa в организме; рассчитывали как $AUMC_{0\text{-}last}/AUC_{0\text{-}last}$, где $AUMC_{0\text{-}last}$ представляет собой общую площадь под первым моментом кривой зависимости концентрации от времени (кривая зависимости концентрация FVIIa против времени), рассчитывали по правилу трапеций); Cl (системный клиренс; рассчитывали как доза/$AUC_{0\text{-}inf}$) и V_d (объем распределения, на основе последней константы распада (β), рассчитывали как $[Cl/(\ln 2/T_{1/2})]$).

D. Фармакокинетические свойства вариантов FVIIa.

Фармакокинетические свойства FVIIa дикого типа и вариантов FVIIa оценивали на основе коагулянтной активности в плазме с использованием описанного выше протокола FVIIaAC. Результаты представлены в табл. 23. Несколько вариантов FVIIa проявляли улучшенные фармакокинетические параметры по сравнению с FVIIa дикого типа.

Таблица 23

Фармакокинетические параметры вариантов FVIIa в мыши

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	ВВ доза (мг/кг)	AUC_{0-inf} (мкг*мин/мл)/доза	Период полураспада (мин)	MRT_{0-last} (мин)	Клиренс (мл/мин/кг)	Объем распределения (мл/кг)	N
NovoSeven® RT FVIIa	0.1	1165	37	50	0.9	46	1
NovoSeven® FVIIa	0.1	741	30	31	1.4	58	1
NovoSeven® FVIIa	1.0	1156	36	41	1.7	89	1
Дикий тип	0.1	686	37	37	1.8	92	6
Дикий тип	1.0	798	50	57	1.5	118	2
P257вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC	0.1	391	32	32	2.3	108	1
T128N/P129A	0.1	1392	57	43	0.8	64	2
S52A	0.1	594	51	58	1.6	118	1
K109N	0.1	951	50	40	1.1	75	1
A51N	0.1	270	33	32	3.7	174	1
S52A/S60A	0.05	460	25	29	2.2	78	1
S52A/S60A	0.1	408	17	34	2.5	61	1
M298Q	0.1	258	76	33	4.9	443	2
T128N/P129A/M298Q	0.1	495	26	28	2.0	75	1
V158D/E296V/M298Q	0.05	72	13	10	13.9	258	1
V158D/E296V/M298Q	0.1	44	16(á), 45(â)	20	22.8	1465	1
V158D/E296V/M298Q	1.0	39	7	13	26.6	979	2
V158D/E296V/M298Q	3.0	22	7.7á	7.9	45.6	506	1
V158D/E296V/M298Q	6.0	48	43	45	20.8	1305	1
T128N/P129A/V158D/E296V/M298Q	0.1	125	11	14	8.0	122	1
S52A/S60A/V158D/E296V/M298Q	0.1	47	15	11	21.4	450	1
Q286R	0.1	181	55	59	5.5	439	1
Мутация (по нумерации зрелого FVII)	**ВВ доза (мг/кг)**	**AUC_{0-inf} (мкг*мин/мл)/доза**	**Период полураспада (мин)**	**MRT_{0-last} (мин)**	**Клиренс (мл/мин/кг)**	**Объем распределения (мл/кг)**	**N**
Q286R	0.3	460	41.7	76	1.8	110	1
Q286R	1.0	1256	67	68	0.8	80	2
T128N/P129A/Q286R	0.1	2443	96	82	0.4	56	1
S52A/S60A/Q286R	0.1	1565	43	60	0.6	55	1
Замена Gla из FIX	0.1	207	20	22	4.9	140	2
K341D	0.1	2817	106	114	0.1	22	1
S222A	0.1	189	32	33	5.3	248	1
S222A	1.0	139	30	33	3.8	293	1
T128N/P129A/S222A	0.1	422	28.4(á), 71(â)	58	2.4	244	1
S52A/S60A/S222A	0.1	270	45	38	3.7	243	1
H257A	0.1	595	31	30	1.7	76	1
H257S	0.1	1015	59	62	1.0	84	1
H257S	0.75	816	50	62	1.2	85	1
Q366V	0.1	19	14	11	51.6	1060	1
Замена Gla из FIX/Q366V	0.1	157	11	7.0	6.4	107	1
A122N/G124S/E394N/P395A/R396S	0.1	1089	63	45	0.9	84	1
G318N	1.0	568	95	56	1.8	242	1
A175S	0.1	2081	111	85	0.5	76	2
K109N/A175S	0.1	1280	183	51	0.8	207	1
S119N/L121S/A175S	0.1	2460	102	50	0.4	60	1
T128N/P129A/A175S	0.1	2770	83	48	0.4	43	1
A122N/G124S/A175S	0.1	3240	91	50	0.3	40	1
A122N/G124S	0.1	679	52.9	42	1.1	87	1
H257A/Q286R	0.1	1848	56.8	73	0.5	44	1
S222A/Q286R	0.1	861	30	38	1.5	97	2

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	ВВ доза (мг/кг)	AUC_{0-inf} (мкг*мин/мл)/доза	Период полураспада (мин)	MRT_{0-last} (мин)	Клиренс (мл/мин/кг)	Объем распределения (мл/кг)	N
Замена Gla из FIX/S222A/ Q286R	1.0	415	39	42	2.4	136	1
Замена Gla из FIX/T128N/ P129A/S222A/ Q286R	0.1	929	55	59	1.1	86	1
S222A/H257A/ Q286R	0.1	976	56	42	1.0	83	1
Q286R/M298Q	0.055	1198	40	44	0.8	49	1
Q286R/M298Q	0.1	605	35	42	1.9	94	6
Q286R/M298Q	1.0	363	29	36	2.8	116	1
Замена Gla из FIX/Q286R/ M298Q	0.1	231	26	20	4.9	194	3
T128N/P129A/ Q286R/M298Q	0.1	1571	41	60	0.6	38	1
T[128]N/P[129]A/ Q286R/M298Q	0.1	1326	42.3	50	0.8	47	1
Замена Gla из FIX/T128N/ P129A/Q286R/ M298Q	0.1	427	30	32	2.3	101	1
{Замена Gla из FIX/E[40]L}/ Q286R/M298Q	0.1	386	53	43	2.6	198	1
{Замена Gla из FIX/K[43]I}/ Q286R/M298Q	0.1	439	85	47	2.3	280	1
{Замена Gla из FIX/Q[44]S}/ Q286R/M298Q	0.1	291	14	24	3.4	150	1
{Замена Gla из FIX/M[19]K}/ Q286R/M298Q	0.1	648	14 (á), 75 (â)	43	1.5	32	1
S52A/S60A/ Q286R/M298Q	0.1	374	32	34	2.7	122	1
Замена Gla из FIX/S52A/S60A/ Q286R/M298Q	0.1	256	19	18	3.9	107	1

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	ВВ доза (мг/кг)	AUC_{0-inf} (мкг*мин/мл)/доза	Период полураспада (мин)	MRT_{0-last} (мин)	Клиренс (мл/мин/кг)	Объем распределения (мл/кг)	N
{Замена Gla из FIX/K[43]I}/ T128N/P129A/ Q286R/M298Q	0.1	154	18	17	6.5	166	1
S222A/M298Q	0.1	72	17	12	13.9	332	1
S222A/H257A/ Q286R/M298Q	0.1	93	33	30	10.8	517	1
T128N/P129A/ S222A/H257A/ Q286R/M2986Q	0.1	770	38	45	1.3	72	1
S52A/S60A/ S222A/H257A/ Q28R/M2986Q	0.1	469	26	28	2.1	78	1
A175S/Q286R/ Q366V	0.1	353	28.9	23	2.8	118	1
Q286R/M298Q/ K341D	0.1	219	23	20	4.6	151	1
M298Q/K341D	0.1	2430	78	76	0.4	46	1
Q286R/M298Q/ Q366N	0.1	569	29	32	1.8	74	1
T128N/P129A/ Q286R/M298Q/ Q366N	0.1	1897	50	58	0.5	38	1
{Замена Gla из FIX K[43]I}/ Q286R/M298Q/ Q366N	0.1	257	10(á), 28(â)	20	3.9	163	1
{Замена Gla из FIX K[43]I}/ T128N/P129A/ Q286R/M298Q/ Q366N	0.1	393	24	27	2.5	89	1
T128N/P129A /Q286R/H373F	0.1	1467	59	62	0.9	74	1
Q286R/M298Q/ H373F	0.1	466	28	23	2.2	87	1
T128N/P129A/ Q286R/M298Q/ H373F	0.1	597	27(á), 67(â)	51	1.6	153	1

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	ВВ доза (мг/кг)	AUC_{0-inf} (мкг*мин/мл)/доза	Период полураспада (мин)	MRT_{0-last} (мин)	Клиренс (мл/мин/кг)	Объем распределения (мл/кг)	N
T128N/P129A/ M298Q/H373F	0.1	307	7(á), 27(â)	23	3.3	126	1
V158D/Q286R/ E296V/M298Q	0.1	172	14	36	5.8	535	1
S222A/T239V	0.1	127	47	39	7.9	535	1
Замена Gla из FIX/S222A /T239V/Q286R	0.1	460	34	33	2.2	108	1
T239V/Q286R/ M298Q	0.1	398	28(á),71(â)	60	2.5	258	1
Замена Gla из FIX/T239V/ Q286R/M298Q	0.1	365	13(á),56(â)	29	2.7	220	1
T128N/P129A/ T239V/Q286R/ M298Q	0.1	914	38	36	1.1	60	1
S222A/T239V/ H257A/Q286R/ M298Q	0.1	181	28	31	5.5	225	1
T128N/P129A/ S222A/T239V/ H257A/Q286R/ M298Q	0.1	564	27	30	1.8	70	1
T239V/Q286R/ H373F	0.1	385	72	54	2.6	269	1
T239V/Q286R/ M298Q/H373F	0.1	149	36	23	6.7	353	1
T128N/P129A/ T239V/Q286R/ M298Q/H373F	0.1	345	27	27	2.9	113	1
V158D/T239I/ E296V/M298Q	0.1	370	14(á),70(â)	50	2.7	273	1
T239I/Q286R	0.1	1820	85	76	0.6	68	1
S222A/T239I	0.1	1300	6(á), 81(â)	69	0.8	90	1
Замена Gla из FIX /S222A/ T239I/Q286R	0.1	1073	70	66	0.9	94	1
T239I/Q286R/ M298Q	0.1	1029	27(á),60(â)	62	1.0	84	1
Замена Gla из FIX /T239I/ Q286R/M298Q	0.1	1269	54	62	0.8	61	1
T128N/P129A/ T239I/Q286R/ M298Q	0.1	2105	82	74	0.5	56	1
S222A/T239I/ H257A/Q286R/ M298Q	0.1	1212	31(á), 79(â)	60	0.8	101	1
T239I/Q286R/ H373F	0.1	1841	30(á), 85(â)	69	0.5	62	1
V158D/T239V/ E296V/ M296Q	0.1	184	24(á), 134(â)	78	5.4	1053	1
T239V/Q286R	0.1	1522	29(á), 72(â)	68	0.7	68	1
T239V/Q286R/ M298Q/H373F	0.1	950	36	61	1.1	55	1
T239V/Q286R/ M298Q/H373F	0.1	806	32	56	1.3	57	2
T239V/Q286R/ M298Q/H373F	0.1	663	27	52	1.5	59	1
T239V/Q286R/ M298Q/H373F	0.1	1350	53	62	0.7	57	1
S222A/H257S/ Q286R/M298Q	0.1	814	33	31	1.2	59	1
H257S/Q286R/ M298Q/H373F	0.1	297	34	34	3.4	163	1
S222A/Q286R/ M298Q/H373F	0.1	106	35	23	9.4	478	1
Замена Gla из FIX /S222A/ Q286R/M298Q/ H373F	0.1	104	9.1(á),17(â)	13	9.7	242	1
S222A/Q286R/ M298Q	0.1	347	24	26	2.9	102	1
Замена Gla из FIX /S222A/ Q286R/M298Q	0.1	263	11	13	3.8	62	1
T128N/P129A/ A175S/Q366V	0.1	2196	52(á), 85(â)	78	0.5	56	1

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	BB доза (мг/кг)	AUC_{0-inf} (мкг*мин/мл)/доза	Период полураспада (мин)	MRT_{0-last} (мин)	Клиренс (мл/мин/кг)	Объем распределения (мл/кг)	N
A122N/G124S/ A175S/Q366V	0.1	2148	92	81	0.5	62	1
T128N/P129A/ A175S/S222A	0.1	4248	122	88	0.2	41	1
A122N/G124S/ A175S/S222A	0.1	3316	102	83	0.3	44	1
T128N/P129A/ A175S/Q286R	0.1	6160	151	94	0.2	35	1
A122N/G124S/ A175S/Q286R	0.1	4097	139	93	0.2	49	1
Замена Gla из FIX /S222A/ Q286R/H373F	0.1	480	26	30	2.1	79	1
V258D/E296V/ M298Q/H373F	0.1	90	8.7(á), 20(â)	14	11.1	321	1
H257A/Q286R/ M298Q	0.1	1029	42	48	1.0	59	1
Замена Gla из FIX /T128N/ P129A/A175S/ S222A/Q286R	0.1	2787	38(á), 134(â)	88	0.4	69	1
Замена Gla из FIX /A122N/ G124S/A175S/ S222A/Q286R	0.1	3492	148	95	0.3	61	1
T128N/P129A/ A175S/Q286R/ M298Q	0.1	5120	171	96	0.2	48	1
A122N/G124S/ A175S/Q286R/ M298Q	0.1	3681	154	92	0.3	61	1
T128N/P129A/ A175S/S222A/ H257A/Q286R/ M298Q	0.1	3140	113	87	0.3	52	1
A122N/G124S/ A175S/S222A/ H257A/Q286R/ M298Q	0.1	2659	37.(á),130(â)	85	0.4	70	1
Мутация (по нумерации зрелого FVII)	**BB доза (мг/кг)**	**AUC_{0-inf} (мкг*мин/мл)/доза**	**Период полураспада (мин)**	**MRT_{0-last} (мин)**	**Клиренс (мл/мин/кг)**	**Объем распределения (мл/кг)**	**N**
T128N/P129A/ A175S/Q286R/ M298Q/H373F	0.1	3580	118	88	0.3	48	1
A122N/G124S/ A175S/Q286R /M298Q/H373F	0.1	3148	105	84	0.3	48	1
V158D/Q286R/ E296V/M298Q/ H373F	0.1	124	20	17	8.1	237	1
M298Q/H373F/ Q366N	0.1	169	8	8.2	5.9	69	1
T239V/M298Q/ H373F	0.1	110	18	16	9.1	235	1
T239I/M298Q/ H373F	0.1	562	26	28	1.8	66	1
T128N/P129A/ Q286R/M298Q/ Q366N/H373F	0.1	607	29	30	1.6	69	1
T239V/Q286R/ M298Q/ Q366N	0.1	729	29	30	1.4	57	1
T239I/Q286R/ M298Q/Q366N	0.1	1548	72	73	0.6	67	1

α - период полураспада α-фазы, измерение полупериода распределения
β - период полураспада β-фазы, измерение полупериода распада

В табл. 24 приведены результаты исследования с использованием следующих фармакокинетических параметров: % выхода препарата (in vivo) (измеренная концентрация FVIIa в плазме спустя 5 мин после введения (первая временная точка), деленная на теоретическую максимальную концентрацию FVIIa в плазме (рассчитанную из введенной массы FVIIa и теоретического общего объема крови), умноженная на 100%); % выхода препарата (in vitro) (измеренная концентрация FVIIa в плазме, в которую добавили известное количество FVIIa, деленная на теоретическую максимальную концентрацию FVIIa в плазме (рассчитанную из количества добавленного FVIIa к известному объему плазмы), умноженная на 100%); величины AUC* Активность/доза (в присутствии ТФ) (отношение AUC/доза в плазме, умноженное на ТФ-зависимую непрямую активность (см. табл. 15 выше); улучшения проявления активности по сравнению с FVIIa Novoseven® (в присутствии ТФ) (рассчитывали как AUC*Активность/доза (в присутствии ТФ)$_{Novoseven®\ FVIIa}$/AUC*Активность/доза (в присутствии ТФ)$_{мутант\ FVIIa}$; величины AUC*Активность/доза (без ТФ) (отношение AUC/доза в плазме, умноженное на ТФ-независимую не-

прямую активность (см. табл. 15 выше); улучшения проявления активности по сравнению с FVIIa Novoseven® (без ТФ) (рассчитывали как AUC*Активность/доза (без ТФ)$_{\text{Novoseven® FVIIa}}$/AUC*Активность/доза (без ТФ)$_{\text{мутант FVIIa}}$).

Таблица 24

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	% выхода (in vivo)	AUC * активность / дозу (в присутствии ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в присутствии ТФ)	AUC * активность / дозу (в отсутствие ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в отсутствие ТФ)
NovoSeven® FVIIa	60%	2.95E+10	1.0	7.26E+03	1.0
Дикий тип	46%	4.71E+10	1.4	1.22E+04	1.5
T239I/Q286R/ M298Q/Q366N	52%	1.15E+11	3.9	1.38E+05	18.9
T239V/Q286R/ M298Q/Q366N	66%	1.35E+11	4.6	4.69E+04	6.5
T128N/P129A/ Q286R/M298Q/Q366N/ H373F	66%	8.10E+10	2.8	9.77E+04	13.5
T239I/M298Q/ H373F	60%	1.95E+10	0.7	7.77E+04	10.7
T239V/M298Q/ H373F	17%	4.89E+09	0.2	3.53E+04	4.9
M298Q/H373F/ Q366N	32%	1.19E+10	0.4	2.13E+04	2.9
V158D/Q286R/ E296V/M298Q/ H373F	21%	2.97E+10	1.0	7.12E+04	9.8
A122N/G124S/ A175S/Q286R/ M298Q/H373F	79%	2.64E+11	9.0	не определяли	не определяли
T128N/P129A/ A175S/Q286R/ M298Q/H373F	85%	2.05E+11	7.0	не определяли	не определяли
A122N/G124S/ A175S/S222A/ H257A/Q286R/ M298Q	76%	2.23E+11	7.6	не определяли	не определяли
Мутация (по нумерации зрелого FVII)	**% выхода (in vivo)**	**AUC * активность / дозу (в присутствии ТФ)**	**Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в присутствии ТФ)**	**AUC * активность / дозу (в отсутствие ТФ)**	**Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в отсутствие ТФ)**
T128N/P129A/ A175S/S222A/ H257A/Q286R/ M298Q	69%	2.16E+11	7.4	6.36E+04	8.8
A122N/G124S/ A175S/Q286R/ M298Q	84%	2.73E+11	9.3	не определяли	не определяли
T128N/P129A/ A175S/Q286R/ M298Q	76%	3.69E+11	12.6	не определяли	не определяли
Gla Swap FIX /A122N/ G124S/ A175S/S222A/ Q286R	42%	1.44E+11	4.9	не определяли	не определяли
Gla Swap FIX /T128N/P129A/ A175S/S222A/ Q286R	69%	1.08E+11	3.7	8.51E+04	11.7
H257A/Q286R /M298Q	42%	1.16E+11	4.0	6.33E+04	8.7
V258D/E296V/ M298Q/H373F	17%	1.36E+10	0.5	1.17E+05	16.1
Gla Swap FIX /S222A/Q286R/ H373F	42%	5.88E+10	2.0	3.90E+04	5.4
A122N/G124S/A175 S/Q286R	78%	1.68E+11	5.8	1.22E+04	1.7
T128N/P129A/ A175S/Q286R	34%	2.05E+11	7.0	2.01E+04	2.8
A122N/G124S/ A175S/S222A	60%	6.90E+10	2.4	не определяли	не определяли
T128N/P129A/ A175S/S222A	88%	7.31E+10	2.5	8.00E+03	1.1
A122N/G124S/ A175S/Q366V	60%	6.48E+10	2.2	6.42E+03	0.9
T128N/P129A/ A175S/Q366V	74%	7.43E+10	2.5	7.39E+03	1.0
Gla Swap FIX / S222A/Q286R/ M298Q	40%	5.52E+10	1.9	1.09E+05	15.0
S222A/Q286R/ M298Q	22%	4.46E+10	1.5	8.78E+04	12.1

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	% выхода (in vivo)	AUC * активность / дозу (в присутствии ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в присутствии ТФ)	AUC * активность / дозу (в отсутствие ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в отсутствие ТФ)
замена Gla FIX/ S222A/Q286R/ M298Q/ H373F	16%	2.94E+10	1.0	1.99E+04	2.7
S222A/Q286R/ M298Q/H373F	5%	1.57E+10	0.5	4.57E+04	6.3
H257S/Q286R/ M298Q/H373F	20%	4.52E+10	1.5	9.01E+03	1.2
S222A/H257S/ Q286R/M298Q	72%	1.28E+11	4.4	3.39E+04	4.7
T239I/Q286R/ M298Q/H373F	56%	8.73E+10	3.0	1.05E+04	1.5
T239V/Q286R	66%	1.35E+11	4.6	1.79E+04	2.5
V158D/T239V/ E296V/ M296Q	8%	4.08E+10	1.4	3.43E+05	47.3
T239I/Q286R/ H373F	77%	1.14E+11	3.9	не определяли	не определяли
S222A/T239I/ H257A/Q286R/ M298Q	61%	1.38E+11	4.7	6.26E+04	8.6
T128N/P129A/T239I /Q286R/M298Q	81%	1.72E+11	5.9	1.64E+05	22.6
замена Gla FIX / T239I/Q286R/ M298Q	56%	1.59E+11	5.4	3.10E+05	42.6
T239I/Q286R/ M298Q	54%	1.16E+11	4.0	1.16E+04	1.6
замена Gla FIX /S222A/T239I/ Q286R	42%	7.27E+10	2.5	2.18E+04	3.0
S222A/T239I	71%	3.97E+10	1.4	2.19E+03	0.3
T239I/Q286R	56%	1.05E+11	3.6	8.34E+03	1.1
V158D/T239I/ E296V/M298Q	34%	5.38E+10	1.8	8.01E+04	11.0
T239V/Q286R/ M298Q/H373F	10%	2.54E+10	0.9	6.07E+03	0.8
T239V/Q286R/ H373F	16%	4.09E+10	1.4	4.69E+03	0.6
T128N/P129A/ S222A/T239V/ H257A/Q286R/ M298Q	49%	6.84E+10	2.3	1.01E+05	13.9

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	% выхода (in vivo)	AUC * активность / дозу (в присутствии ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в присутствии ТФ)	AUC * активность / дозу (в отсутствие ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в отсутствие ТФ)
S222A/T239V/ H257A/Q286R/ M298Q	15%	3.87E+10	1.3	2.59E+04	3.6
T128N/P129A/ T239V/Q286R/ M298Q	60%	9.47E+10	3.2	2.10E+05	28.9
(замена Gla FIX/T239V/ Q286R/M298Q	34%	9.24E+10	3.2	1.01E+05	14.0
T239V/Q286R/ M298Q	21%	6.85E+10	2.3	1.17E+04	1.6
замена Gla FIX/ S222A/T239V/ Q286R	33%	9.32E+10	3.2	7.99E+03	1.1
S222A/T239V	10%	9.52E+09	0.3	3.83E+02	0.1
V158D/Q286R/ E296V/M298Q	15%	2.56E+10	0.9	1.76E+05	24.3
T128N/P129A/ Q286R/M298Q/ H373F	36%	7.92E+10	2.7	1.83E+04	2.5
Q286R/M298Q/ H373F	66%	1.39E+11	3.9	1.42E+05	12.1
T128N/P129A/ Q286R/H373F	49%	2.03E+11	6.9	1.93E+04	2.7
{замена Gla FIX K[43]I}/ T128N/ P129A Q286R/M298Q /Q366N	45%	9.88E+10	3.4	8.58E+04	11.8
{замена Gla FIX K[43]I}/Q286R/ M298Q/Q366N	36%	4.35E+10	1.5	2.18E+04	3.0
Q286R/M298Q/ Q366N	41%	1.33E+11	4.5	7.50E+04	10.3
M298Q/K341D	84%	4.26E+10	1.0	1.02E+04	0.6
Q286R/M298Q/ K341D	33%	4.98E+09	0.1	5.24E+03	0.3
A175S/Q286R/ Q366V	22%	3.72E+10	0.9	7.31E+03	0.4
S52A/S60A/S222A/ H257A/Q28R/ M2986Q	45%	1.17E+11	4.0	5.42E+04	7.5

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	% выхода (in vivo)	AUC * активность / дозу (в присутствии ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в присутствии ТФ)	AUC * активность / дозу (в отсутствие ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в отсутствие ТФ)
T128N/P129A/S222A/H257A/Q286R/M2986Q	53%	1.80E+11	6.1	5.23E+04	7.2
S222A/H257A/Q286R/M298Q	9%	3.04E+10	0.9	4.17E+04	4.9
S222A/M298Q	7%	8.63E+09	0.2	9.51E+04	5.1
{замена Gla FIX/K[43]I}/T128N/P129A/Q286R/M298Q	23%	2.46E+08	0.0	6.00E+04	8.3
замена Gla FIX/S52A/S60A/Q286R/M298Q	32%	4.63E+10	1.6	2.54E+05	34.9
S52A/S60A/Q286R/M298Q	31%	4.67E+10	1.6	8.11E+04	11.2
{замена Gla FIX/M[19]K}/Q286R/M298Q	69%	9.11E+10	3.1	3.32E+05	45.7
{замена Gla FIX/Q[44]S}/Q286R/M298Q	35%	5.77E+10	2.0	2.12E+05	29.2
{замена Gla FIX/K[43]I}/Q286R/M298Q	28%	1.20E+11	4.1	3.96E+05	54.5
{замена Gla FIX/E[40]L}/Q286R/M298Q	36%	8.04E+10	2.7	3.14E+05	43.3
замена Gla FIX /T128N/P129A/Q286R/M298Q	84%	9.00E+10	3.1	3.58E+04	4.9
T[128]N/P[129]A/Q286R/M298Q	66%	1.55E+11	5.3	2.20E+05	30.3
T[128]N/P[129]A/Q286R/M298Q	62%	4.21E+11	14.4	1.84E+05	25.4
Q143R/M156Q/замена Gla FIX	21%	8.53E+10	2.7	2.30E+05	29.9
Q286R/M298Q	51%	1.08E+11	3.2	1.03E+05	11.2
S222A/H257A/Q286R	40%	1.55E+11	4.4	2.72E+04	3.2
замена Gla FIX/T128N/P129A/S222A/Q286R	44%	1.37E+11	4.7	1.44E+04	2.0

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	% выхода (in vivo)	AUC * активность / дозу (в присутствии ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в присутствии ТФ)	AUC * активность / дозу (в отсутствие ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в отсутствие ТФ)
замена Gla FIX/S222A/ Q286R	32%	5.95E+10	1.4	2.15E+04	1.2
S222A/Q286R	51%	1.85E+11	5.4	4.61E+04	2.5
H257A/Q286R	63%	3.66E+11	12.5	1.59E+04	2.2
A122N/G124S/A175S	82%	8.70E+10	2.4	2.18E+04	1.2
T128N/P129A/A175S	80%	6.16E+10	1.7	ND	ND
S119N/L121S/A175S	60%	8.68E+10	2.5	ND	ND
K109N/A175S	22%	4.73E+10	1.3	ND	ND
A175S	52%	8.10E+10	2.4	1.40E+04	0.8
G318N	37%	5.22E+10	1.2	0.00E+00	0.0
A122N/G124S/E394N/P395A/R396S	46%	1.07E+11	2.5	не определяли	не определяли
замена Gla FIX/Q366V	26%	1.43E+10	0.5	1.41E+04	1.9
Q366V	3%	4.09E+09	0.1	1.44E+03	0.1
H257S	39%	1.67E+11	5.1	1.30E+04	0.9
H257A	36%	4.96E+10	1.2	1.18E+04	0.6
S52A/S60A/S222A	11%	1.05E+10	0.4	5.28E+03	0.7
T128N/P129A/S222A	21%	5.28E+10	1.8	4.06E+03	0.6
S222A	10%	1.55E+10	0.4	8.56E+03	0.5
K341D	98%	4.77E+10	1.1	не определяли	не определяли
S52A/S60A/Q286R	67%	6.42E+10	2.2	1.59E+04	2.2
T128N/P129A/Q286R	67%	4.13E+11	14.1	4.24E+04	5.8
Q286R	35%	1.31E+11	3.7	3.52E+04	2.6
S52A/S60A/V158D/E296V/M298Q	7%	9.34E+09	0.3	8.24E+04	11.3
T128N/P129A/V158D/E296V/M298Q	21%	5.03E+10	1.7	3.44E+05	47.4
T128N/P129A/M298Q	58%	3.11E+10	1.1	4.49E+04	6.2
M286Q	18%	1.33E+10	0.4	4.93E+04	3.8
S52A/S60A	51%	5.36E+10	1.4	7.76E+03	0.6

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	% выхода (in vivo)	AUC * активность / дозу (в присутствии ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в присутствии ТФ)	AUC * активность / дозу (в отсутствие ТФ)	Увеличение проявляемой активности по сравнению с Ново7 (в отсутствие ТФ)
A51N	15%	4.65E+10	1.1	9.39E+03	0.5
A122N/G124S	45%	5.26E+10	1.8	4.61E+03	0.6
A122N/G124S	45%	9.20E+10	2.2	0.00E+00	0.0
K109N	52%	1.05E+11	3.6	ND	ND
K109N	52%	8.43E+10	2.0	ND	ND
S52A	37%	3.50E+10	0.8	0.00E+00	0.0
замена Gla FIX	31%	2.63E+10	0.7	1.28E+04	1.4
T128N/P129A	88%	8.25E+10	2.4	25147.5	2.6
P257вставкаGGGSC SFGRGDIRNVC	38%	6.29E+10	1.5	не определяли	не определяли

Пример 10. Определение связывания фактора VIIa с растворимым тканевым фактором.

Способность вариантов FVIIa, экспрессированных в HEK 293 или BHK клетках, связывать растворимый тканевый фактор (рТФ) оценивали с помощью поверхностного плазмонного резонанса на приборе Biacore. Варианты FVIIa оценивали путем измерения профиля связывания при трех концентрациях протеазы в двух повторностях, используя два различных уровня рТФ, связанных с чипом Biacore CM5.

С новым сенсорным чипом Series S CM5 (GE Healthcare Cat # BR 1006-68) связали бычий сывороточный альбумин и растворимый тканевый фактор с помощью прибора Biacore T100. Соединение было проведено с использованием буфера для соединения Biacore (30 мМ Na Hepes pH 7,4, 135 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА, 0,01% твин-20) с применением комплекта для связывания аминогрупп (GE Healthcare Cat # BR-1000-50) и протокола в программном обеспечении Biacore T100. Для иммобилизации были использованы все четыре ячейки чипа. Ячейки 1 и 3 связали с 500 единицами ответа (RU) бычьего сывороточного альбумина, указанный белок разводили в ацетатном буфере, pH 4,0, ячейки 2 и 4 связали с 500 и 250 RU рТФ (R&D Systems), растворенным в ацетатном буфере, pH 4,5.

Каждый вариант FVIIa и протеазу FVIIa дикого типа исследовали при трех концентрациях и в двух повторностях. Протеазы разбавляли до 60, 30 и 15 нМ в 100 мкл буфера Biacore (20 мМ Na Hepes, pH 7,4, 150 мМ NaCl, 5 мМ $CaCl_2$, 0,1% ПЭГ 8000, 0,1% БСА, 0,01% Твин-20) в 96-луночном планшете для анализа. Каждый образец анализировали с помощью прибора Biacore T100 при времени контакта 120 с и времени диссоциации 180 с при скорости потока 10 мкл/мин. Буфер без растворенных белков также был исследован. Чип регенерировали 50 мМ ЭДТА, pH 7,0 в течение 60 с, затем 30 с. Анализ для определения связывания FVIIa дикого типа с рТФ дал три набора кривых, которые дали значение K_d около 8 нМ.

Для анализа данных использовали программное обеспечение Biacore T100 Evaluation. Для аппроксимации был использован анализ связывания кинетика/аффинность 1:1, который аппроксимирует данные изотермой Ленгмюра, данные индивидуально аппроксимировали для двух повторностей для каждого варианта при двух уровнях единиц ответа. Четыре полученных после аппроксимации значения K_d были усреднены и приведены в табл. 25. Варианты FVIIa, содержащие мутацию M298Q, как правило, проявляли более низкое значение K_d и, следовательно, более прочно связывали рТФ.

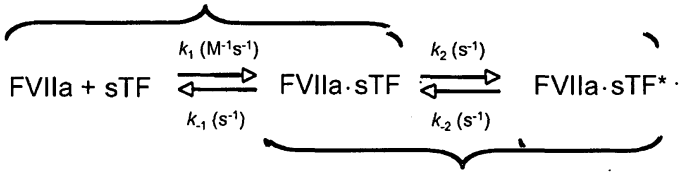
Таблица 25

Связывание вариантов FVIIa с растворимым ТФ

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Аффинность K_d (нМ)	
		293-F клетки	BHK21 клетки
Дикий тип	Дикий тип	7.9	9.0
Q286N	Q143N	8.9	
Q286E	Q143E	3.8	
Q286D	Q143D	9.8	
Q286S	Q143S	8.2	
Q286T	Q143T	10.6	
Q286R	Q143R	7.6	
Q286K	Q143K	8.2	
Q286A	Q143A	6.3	
Q286V	Q143V	11.9	
S222A	S82A	4.2	
H257S	H117S	4.2	
Q366D	Q217D	3.2	
Q366E	Q217E	5.6	
Q366N	Q217N	3.8	
Q366T	Q217T	7.1	
Q366S	Q217S	9.0	
Q366V	Q217V	7.9	
A175S	A39S	6.5	
V158T/L287T/M298K	V21T/L144T/M156K	8.4	
V158D/L287T/M298K	V21D/L144T/M156K	8.5	
Q286R/S222A	Q143R/S82A		7.3
Q286R/S222A/ замена Gla FIX	Q143R/S82A/ замена Gla FIX	8.4	
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q		4.7
Q286R/M298Q/K341Q	Q143R/M156Q/K192Q		11.4
Q286R/M298Q/K199E	Q143R/M156Q/K60cE		4.9
S222A/M298Q	S82A/M156Q		5.1
H257A/M298Q	H117A/M156Q		3.1
S222A/H257A /Q286R/M298Q	S82A/H117A/Q143R/ M156Q	2.5	
Q286R/Q366V	Q143R/Q217V	29.3	
A175S/Q286R/Q366V	A39S/Q143R/Q217V		18.3
S222A/Q286R/Q366V	S82A/Q143R/Q217V		8.6
Q286M	Q143M	7.1	
Q286L	Q143L	7.1	
Q286Y	Q143Y	7.5	
Q366I	Q217I	6.7	
Q366L	Q217L	5.2	
Q366M	Q217M	4.7	
H216A/H257A	H76A/H117A	6.0	
Q286R/K341D	Q143R/K192D	3.5	
M298Q/K341D	Q143R/Q217D	7.9	
Q286R/Q366N	Q143R/Q217N	8.0	
Q286R/M298Q/Q366D	Q143R/M156Q/Q217D	4.6	
Q286R/M298Q/Q366N	Q143R/M156Q/Q217N	3.8	

Дополнительную серию экспериментов проводили для оценки связывания вариантов FVIIa с растворимым ТФ с использованием того же анализа, как описано выше, но с модифицированным диапазоном доз FVIIa 30 нМ, 15 нМ и 7,5 нМ, и для аппроксимации данных SPR была использована модель с двумя состояниями. Этот анализ модели с двумя состояниями проводили с помощью пакета программного обеспечения Biacore T100 Evaluation Software, который приведен ниже. Результаты представлены в табл. 26 ниже.

Зависимое от концентрации связывание 1:1



обратимое изменение конформации 1-го порядка

Таблица 26

Связывание вариантов FVIIa с растворимым ТФ

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Аффинность Kd (нМ)	Стандартное отклонение	% Коэффициент вариации	Аффинность $K_{d\ дикого\ типа}$ / $K_{d\ мутанта}$	N
Дикий тип (NovoSeven®)	Дикий тип (NovoSeven®)	6.5	1.2	19%	1.2	19
Дикий тип (NovoSeven-RT®)	Дикий тип (NovoSeven-RT®)	6.3	85%	13%	1.2	4
Дикий тип	Дикий тип	7.6	1.9	24%	1.0	6
Дикий тип †	Дикий тип †	3.9	0.6	15%	1.0	6
T128N/P129A	T[128]N/P[129]A	6.8	1.2	18%	1.1	7
замена Gla FIX	замена Gla FIX	36.0	2.6	7%	0.2	3
K109N	K[109]N	10.8	0.2	2%	0.7	2
S52A/S60A	S[52]A/S[60]A	23.2	4.0	17%	0.3	2
M298Q	M156Q	5.9	0.7	11%	1.3	4
M298Q †	M156Q †	1.9	0.1	7%	2.0	2
T128N/P129A/ M298Q †	T[128]N/P[129]A/ M156Q †	2.4	0.4	16%	1.6	2
V158D/E296V /M298Q	V21D/E154V/ M156Q	2.0	0.5	26%	3.9	10
V158D/E296V/ M298Q †	V21D/E154V/ M156Q †	1.8	0.5	30%	2.2	4
T128N/P129A/ V158D/E296V/ M298Q	T[128]N/P[129]A/ V21D/E154V/ M156Q	2.0	0.1	4%	3.9	2
S52A/S60A/V158D/ E296V/M1298Q	S[52]A/S[60]A/ V21D/E154V/ M156Q	14.6	1.3	9%	0.5	2
Q286R	Q143R	6.7	0.4	5%	1.1	2
T128N/P129A/ Q286R	T[128]N/P[129]A/ Q143R	11.1	4.3	39%	0.7	6
T128N/P129A/ Q286R †	T[128]N/P[129]A/ Q143R †	10.0	1.6	16%	0.4	4
S52A/S60A/Q286R	S[52]A/S[60]A/ Q143R †	51.6	18.4	36%	0.1	5
S222A	S82A	2.6	0.1	4%	3.0	2
T128N/P129A/ S222A	T[128]N/P[129]A/ S82A	3.6	0.2	7%	2.1	2
S52A/S60A/S222A	S[52]A/S[60]A/ S82A	17.2	2.4	14%	0.4	2
H257S	H117S	6.6	1.5	23%	1.2	2
замена Gla FIX/Q366V	замена Gla FIX/Q217V	56.0	15.1	27%	0.1	3
A175S	A39S	12.3	0.1	1%	0.6	2
K109N/A175S	K[109]N/A39S	9.0	0.0	0%	0.8	2
S119N/L121S/ A175S	S[119]N/L[121]S/ A39S	6.6	0.1	1%	1.1	2
T128N/P129A/ A175S	T[128]N/P[129]A/ A39S	10.0	0.1	1%	0.8	2
A122N/G124S/ A175S	A[122]N/G[124]S/ A39S	12.1	2.2	18%	0.6	2
Q286R/H257A	Q143R/H117A	7.2	1.0	13%	1.1	2
Q286R/H257A †	Q143R/H117A †	5.5	0.1	2%	0.7	2
Q286R/S222A	Q143R/S82A	3.4	0.2	6%	2.3	2
замена Gla FIX/ T128N/P129A/ S222A/Q286R	замена Gla FIX/ T[128]N/P[129]A/ S82A/Q143R	21.3	5.6	26%	0.4	6
замена Gla FIX/ T128N/P129A/ S222A/Q286R †	замена Gla FIX/ T[128]N/P[129]A/ S82A/Q143R †	24.6	6.4	26%	0.2	6
замена Gla FIX/ S52A/S60A/S222A/ Q286R	замена Gla FIX/ S[52]A/S[60]A/ S82A/Q143R	56.9	8.5	15%	0.1	2
Q286R/S222A/ H257A	Q143R/S82A/ H117A	6.0	0.5	8%	1.3	2
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	4.1	0.5	11%	1.9	9
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q †	3.6	1.1	29%	1.1	13
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q §	3.2	0.2	7%	1.2	4
замена Gla FIX/ Q286R/M298Q	замена Gla FIX/ Q143R/M156Q	30.4	5.4	18%	0.3	3
замена Gla FIX/ Q286R/M298Q †	замена Gla FIX/ Q143R/M156Q †	22.1	1.5	7%	0.2	8
T128N/P129A /Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q	4.7	1.2	26%	1.6	5

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Аффинность Kd (нМ)	Стандартное отклонение	% Коэффициент вариации	Аффинность $K_{d\ дикого\ типа}$ / $K_{d\ мутанта}$	N
T128N/P129A/Q286R/ M298Q †	T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q †	3.9	0.4	11%	1.0	8
замена Gla FIX /T128N/P129A/ Q286R/ M298Q	замена Gla FIX /T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q	20.8	1.4	7%	0.4	5
замена Gla FIX /T128N/P129A/ Q286R/ M298Q †	замена Gla FIX /T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q †	37.5	12.3	33%	0.1	8
{замена Gla FIX/E40L}/ Q286R/M298Q	{замена Gla FIX/E[40]L}/ Q143R/M156Q	38.5	7.4	19%	0.2	2
{замена Gla FIX/K43I}/ Q286R/M298Q	{замена Gla FIX/K[43]I}/ Q143R/M156Q	35.3	3.4	10%	0.2	2
{замена Gla FIX/K43I}/ Q286R/M298Q †	{замена Gla FIX/K[43]I}/ Q143R/M156Q †	23.7	3.6	15%	0.2	2
{замена Gla FIX/Q44S}/ Q286R/M298Q	{замена Gla FIX/Q[44]S}/ Q143R/M156Q	40.8	6.4	16%	0.2	3
{замена Gla FIX/M19K}/ Q286R/M298Q	{замена Gla FIX/M[19]K}/ Q143R/M156Q	16.7	2.4	14%	0.5	2
S52A/S60A/ Q286R/M298Q	S[52]A/S[60]A/Q143R/M156Q	25.1	1.7	7%	0.3	3
замена Gla FIX /S52A/S60A/Q286R/ M298Q †	замена Gla FIX/ S[52]A/S[60]A/ Q143R/M156Q †	6.0	0.1	1%	0.6	2
{замена Gla FIX/ M19K/E40L/K43I/ Q44S}/Q286R/ M298Q	{замена Gla FIX/ M[19]K/E[40]L/ K[43]I/Q[44]S} /Q143R/M156Q	4.9	0.1	1%	1.6	2
{замена Gla FIX/K43I} /T128N/P129A/ Q286R/M298Q †	{замена Gla FIX/K[43]I} /T[128]N/P[129]A/ Q143R/M156Q †	10.5	1.3	13%	0.4	2
T239V	T99V	5.2			1.5	1
T239I	T99I	6.2			1.2	1
T128N/P129A/ S222A/H257A/ Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/S 82A/H117A/Q143R /M156Q	2.6	0.3	11%	3.0	2
T128N/P129A/ S222A/H257A/Q286 R/M298Q †	T[128]N/P[129]A/ S82A/H117A/ Q143R/M156Q †	4.0	0.2	4%	1.0	2

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Аффинность Kd (нМ)	Стандартное отклонение	% Коэффициент вариации	Аффинность $K_{d\ дикого\ типа}$ / $K_{d\ мутанта}$	N
S52A/S60A/S222A/ H257A/Q286R/ M298Q	S[52]A/S[60]A/S82 A/H117A/Q143R/ M156Q	11.1	2.7	24%	0.7	2
T128N/P129A/ Q286R/M298Q/ Q366N †	T[129]N/P[129]A/ Q143R/M156Q/ Q217N †	3.2	0.6	18%	1.2	2
{замена Gla FIX/K43I}/Q286R/ M298Q/Q366N †	{замена Gla FIX/K[43]I} /Q143R/M156Q/ Q217N †	13.0	0.7	5%	0.3	2
{замена Gla FIX/K43I}/T[128]N/ P[129]A/Q286R/ M298Q/Q366N †	{замена Gla FIX/K[43]I} /T[128]N/P[129]A/ Q143R/M156Q/ Q217N †	13.1	0.3	2%	0.3	2
T128N/P129A/Q286 R/H373F	T[128]N/P[129]A/ Q143R/H224F	6.8	0.0	0%	1.1	2
T128N/P129A/Q286 R/M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/ Q143R/M156Q/ H224F	3.1	0.1	4%	2.4	2
S52A/S60A/Q286R/ M298Q/H373F	S[52]A/S[60]A/ Q143R/M156Q/ H224F	23.4	7.5	32%	0.3	3
T128N/P129A/ M298Q/H373F †	T[128]N/P[129]A/ M156Q/H224F †	1.3	0.5	41%	3.1	2
V21D/Q143R/ E154V/M156Q	V21D/Q143R/ E154V/M156Q	2.2	0.2	8%	3.5	2
замена Gla FIX /S222A/T239V/Q28 6R	замена Gla FIX /S82A/T99V/Q143 R	19.1	7.7	40%	0.4	7
замена Gla FIX /S222A/T239V/ Q286R †	замена Gla FIX /S82A/T99V/ Q143R †	14.9	0.4	3%	0.3	2
T239V/Q286R/ M298Q	T99V/Q143R/ M156Q	2.5	0.1	4%	3.1	2
замена Gla FIX/ T239V/Q286R/M29 8Q	замена Gla FIX/ T99V/Q143R/M156 Q	22.7	6.8	30%	0.3	6
замена Gla FIX/ T239V/Q286R/ M298Q †	замена Gla FIX/ T99V/Q143R/ M156Q †	25.7	9.2	36%	0.2	6
T128N/P129A/T239 V/Q286R/M298Q †	T[128]N/P[129]A/ T99V/Q143R/ M156Q †	7.8	0.6	8%	0.5	2

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Аффинность Kd (нМ)	Стандартное отклонение	% Коэффициент вариации	Аффинность $K_{d\ дикого\ типа}$ / $K_{d\ мутанта}$	N
S222A/T239V/ H257A/Q286R/ M298Q	S82A/T99V/H117A /Q143R/M156Q	2.2	0.0	2%	3.4	2
T128N/P129A/S222 A/T239V/H257A/ Q286R/M298Q †	[T128]N/P[129A]/ S82A/T99V/H117A /Q143R/M156Q †	3.6	0.7	18%	1.1	2
T128N/P129A/ T239V/Q286R/ M298Q/H373F †	T[128N]/P[129]A/ T99V/Q143R/ M156Q/H224F †	3.9	0.1	3%	1.0	2
T239I/Q286R	T99I/Q143R	8.0	0.2	3%	1.0	2
GlaSwapFIX/S222A/ T239I/Q286R	замена Gla FIX /S82A/T99I/Q143R	39.6	1.2	3%	0.2	2
замена Gla FIX / T239I/Q286R/ M298Q	замена Gla FIX /T99I/Q143R/ M156Q	13.1	2.1	16%	0.6	2
T128N/P129A/T239I /Q286R/M298Q †	[T128]N/P[129A]/ T99I/Q143R/ M156Q †	5.1	0.9	18%	0.8	2
T239I/Q286R/H373 F	T99I/Q143R/H224F	7.8	0.1	1%	1.0	2
V158D/T239V/E296 V/M298Q	V21D/T99V/E154V /M156Q	1.7	0.6	32%	4.4	4
V158D/T239V/E296 V/M298Q †	V21D/T99V/E154V /M156Q †	1.9	0.7	36%	2.1	4
T239V/Q286R	T99V/Q143R	2.3	0.0	1%	1.7	2
T128N/P129A/T239I / Q286R/M298Q/ H237F †	T[128]N/P[129]A/ T99I/Q143R/ M156Q/ H224F †	3.4	0.0	0%	1.2	2
замена Gla FIX/ Q286R/S222A/ H257S	замена Gla FIX/ Q143R/S82A/ H117S	34.3	9.1	27%	0.2	3
S222A/Q286R/ M298Q/ H373F	S82A/Q143R/ M156Q/H224F	2.1	0.1	6%	3.7	2
замена Gla FIX/S222A/ Q286R/M298Q/ H373F	замена Gla FIX S82A/Q143R/ M156Q/H224F	9.5	0.9	9%	0.8	2
T128N/P129A/ A175S/ Q366V	T[128]N/P[129]A/ A39S/Q217V	6.5	12.0	184%	1.2	2
A122N/G124S/ A175S/Q366V	A[122]N/G[124]S/ A39S/Q217V	13.0	0.6	5%	0.6	2
T128N/P129A/ A175S/S222A	T[128]N/P[129]A/ A39S/S82A	4.5	0.3	7%	1.7	2

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Аффинность Kd (нМ)	Стандартное отклонение	% Коэффициент вариации	Аффинность $K_{d\ дикого\ типа}$ / $K_{d\ мутанта}$	N
A122N/G124S/ A175S/S222A	A[122]N/G[124]S/ A39S/S82A	7.0	0.6	9%	1.1	2
T128N/P129A/ A175S/Q286R	T[128]N/P[129]A/ A39S/Q143R	8.6	0.1	1%	0.9	2
A122N/G124S/ A175S/Q286R	A[122]N/G[124]S/ A39S/Q143R	8.6	0.0	0%	0.9	2
замена Gla FIX/ S222A/Q286R/ H373F	замена Gla FIX/ S82A/Q143R/ H224F	40.9	7.5	18%	0.2	3
замена Gla FIX/ A122N/G124S/ A175S/S222A/Q286 R	замена Gla FIX/ A[122]N/G[124]S/ A39S/S82A/Q143R	43.7	14.0	32%	0.2	2
T128N/P129A/ A175S/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/ A39S/Q143R/ M156Q	5.5	0.0	0%	1.4	2
A122N/G124S/A175 S/ Q286R/M298Q	A[122]N/G[124]S/ A39S/Q143R/M156 Q	5.3	0.1	2%	1.4	2
T128N/P129A/ A175S/S222A/ H257A/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/ A39S/S82A/H117A /Q143R/M156Q	6.7	0.8	11%	1.1	2
A122N/G124S/ A175S/S222A/ H257A/Q286R/ M298Q	A[122]N/G[124]S/ A39S/S82A/H117A /Q143R/M156Q	7.7	0.6	8%	1.0	2
T128N/P129A/ A175S/Q286R/ M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/ A39S/Q143R/ M156Q/H224F	7.4	3.2	43%	1.0	2
A122N/G124S/ A175S/Q286R/ M298Q/ H373F	A[122]N/G[124]S/ A39S/Q143R/ M156Q/H224F	5.0	0.1	3%	1.5	2
V158D/Q286R/E296 V/M298Q/H373F	V21D/Q143R/E154 V/M156Q/H224F	1.7	0.5	27%	4.5	3
M298Q/Q366N/ H373F †	M156Q/Q217N/ H224F †	1.6	0.9	60%	2.5	4
T239V/M298Q/ H373F †	T99V/M156Q/ H224F †	3.5	0.4	11%	1.1	2
T239I/M298Q/ H373F †	T99I/M156Q/ H224F	2.3	0.6	24%	1.7	4

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Аффинность Kd (нМ)	Стандартное отклонение	% Коэффициент вариации	Аффинность $K_{d\ дикого\ типа}$ / $K_{d\ мутанта}$	N
T128N/P129A/ Q286R/ M298Q/Q366N/ H373F †	T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q/Q217N/ H224F †	2.6	0.6	23%	1.5	2
T239V/Q286R/ M298Q /Q366N †	T99V/Q143R/ M156Q /Q217N †	4.1	0.3	8%	0.9	2
T239I/Q286R/ M298Q/Q366N †	T99I/Q143R/ M156Q/Q217N †	2.4	0.6	27%	1.6	2

† полученные в клетках CHOX

§ полученные в стабильном клоне 52-5F7 клеточной линии CHOX

Пример 11. Ингибирование вариантов FVIIa Zn^{2+}.

Варианты FVIIa, экспрессированные в клетках HEK 293 или BHK, исследовали на устойчивость к ингибированию Zn^{2+} в присутствии или в отсутствие растворимого тканевого фактора. $ZnCl_2$ (Aldrich) разбавляли до 20 мМ в dH_2O, затем до 4 мМ в 1 × буфере (50 мМ Na Hepes, pH 7,5, 100 мМ NaCl, 1,5 мМ $CaCl_2$, 0,01% Твин-20 и 0,01% ПЭГ-8000). В 96-луночном планшете последовательным разведением в 2 раза были приготовлены одиннадцать концентраций цинка, вплоть до 3,9 мкМ. Последняя ячейка ряда содержала буфер без цинка для измерения не ингибированной протеолитической активности FVIIa. Варианты FVIIa и протеазу дикого типа разбавляли до 500 нМ, затем снова разбавляли в 10 раз до 50 нМ. Приготовленный 50 нМ исходный раствор использовали для анализов без растворимого тканевого фактора (рТФ, R&D Systems). При выполнении анализов с растворимым тканевым фактором протеазу снова разбавляли в 1 × буфере для анализа с рТФ до конечной концентрации 12,5 нМ и 125 нМ соответственно. Растворы предварительно инкубировали в течение не менее 5 мин при комнатной температуре.

Для начала реакции ингибирования 20 мкл FVIIa/рТФ или раствора FVIIa смешивали с 60 мкл разведения цинка в каждом ряду в одной из десяти концентраций. Для ингибирования FVIIa смеси готовили с использованием 2 мМ $ZnCl_2$, а для FVIIa/рТФ - с использованием 4 мМ $ZnCl_2$. Планшеты инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре. Для анализа ингибирования Zn^{2+} 20 мкл субстрата FVIIa (мезил-dFPR-ACC, растворенный до 20 мМ в ДМСО и разведенный в буфере для анализа) добавили в лунки до конечной концентрации 90 мкМ. Концентрации рТФ и цинка для анализа оставались неизменными вследствие добавления их по мере необходимости в раствор субстрата. Увеличение флуоресценции (возбуждение: 380 нм, излучение: 460 нм) измеряли в течение 60 мин при 30°C на планшетном спектрофотометре Spectramax Gemini M5 (Molecular Devices). Остаточную протеолитическую активность рассчитывали для каждой концентрации цинка путем деления ингибированной скорости реакции на не ингибированную скорость катализируемой протеазой реакции. Концентрацию Zn^{2+}, необходимую для ингибирования половины протеолитической активности ($K_{0,5}$), рассчитывали путем построения остаточной активности против концентрации цинка и аппроксимирования гиперболическим уравнением с использованием программного обеспечения XLFit4 (IDBS). Каждую протеазу исследовали два раза в двух отдельных повторностях для получения среднего значения для $K_{0,5}$.

Результаты представлены в табл. 27. Мутации H257 и H216 повышали устойчивость примерно в 3 раза. Мутация M268Q также повышала устойчивость к цинку в 3 раза. Во всех случаях при комбинации с дополнительными мутациями эффект сохранялся в различной степени. Наиболее устойчивыми вариантами были комбинации приведенных выше мутаций: H216A/H257A-FVIIa и H257A/M298Q-FVIIa.

Таблица 27

Ингибирование вариантов FVIIa Zn^{2+}

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	$K_{0,5}$ (мМ)	
		HEK 293	BHK
Дикий тип	Дикий тип	87.0	42.0
M298Q	M156Q	187.3	
Q286R	Q143R	30.1	22.5
H216S	H76S	231.0	
H216A	H76A	244.5	
H216K	H76K	248.8	
H216R	H76R	316.5	
S222A	S82A	87.5	63.8
S222K	S82K	73.0	
H257A	H117A	217.5	113.0
H257S	H117S	149.7	128.0
K161S	K24S	51.5	
K161A	K24A	73.5	
K161V	K24V	79.5	
Q286R/S222A	S82A/Q143R		24.5

Q286R/S222A/ замена Gla из FIX	S82A/Q143R/ замена Gla из FIX	34.0	
S222A/M298Q	S82A/M156Q	138.0	
H257A/M298Q	H117A/M156Q	481.0	
S222A/H257A/Q286R/ M298Q	S82A/H117A/Q143R/ M156Q	180.6	
S222A/Q286R/Q366V	S82A/Q143R/Q217V	40.5	
S222V	S82V	86.8	
S222D	S82D	89.5	
S222N	S82N	94.6	
S222E	S82E	110.5	
H216A/H257A	H76A/H117A	407.5	
H216A/S222A	H76A/S82A	226.0	
H257S/Q286R	H117S/Q143R	316.5	
S222A/H373A	S82A/H224A	94.0	

Пример 12. Определение концентрации каталитически активных протеаз с использованием титранта активных сайтов 4-метилумбеллиферил-p'-гуанидинобензоата (MUGB).

В некоторых случаях концентрацию каталитически активного FVIIa в исходном растворе определяли титрованием комплекса FVIIa с растворимым тканевым фактором (рТФ) 4-метилумбеллиферил-p'-гуанидинобензоатом (MUGB), флуорогенным эфирным субстратом, разработанным для активных центров трипсиноподобных сериновых протеаз. Анализ проводили, как описано в работе Payne и др., (Biochemistry (1996) 35: 7100-7106), с небольшими изменениями. MUGB легко реагирует с FVIIa, но не с FVII или неактивной протеазой, с образованием стабильного ацил-ферментного интермедиата при насыщающей концентрации MUGB и медленном деацилировании, что ограничивает скорость катализа. В этих условиях протеаза FVIIa осуществляет один оборот катализа, высвобождая 4-метилумбеллифероновый флуорофор (4-MU). Если первоначальный подъем флуоресценции сопоставить со стандартной кривой зависимости флуоресценции от концентрации 4-MU, может быть рассчитана концентрация активных центров.

Анализы проводились с 1 или 2 мл реакционной смеси в 0,4 см × 1 см или 1 см × 1 см кварцевых кюветах, соответственно, при постоянном перемешивании. Каждая реакционная смесь содержала 0,5 мкМ рТФ (R&D Systems Human) в буфере, содержащем 50 мМ Hepes, 100 мМ NaCl, 5 мМ $CaCl_2$ и 0,1% ПЭГ 8000, pH 7,6. Использовали свежеприготовленный стандартный раствор 4-MU при исходной концентрации 0,5М в ДМСО, концентрации подтверждали измерением абсорбции при 360 нм, используя коэффициент экстинкции 19000 $M^{-1}см^{-1}$ в 50 мМ Трис-буфер, pH 9,0. MUGB приготовили в исходной концентрации 0,04М в ДМСО из сухого вещества. Анализы начали добавлением 4 мкл 4 мМ MUGB (для реакции в 2,0 мл) или 2 мМ MUGB (для реакции в 1,0 мл) (в каждом случае конечная концентрация составила 8 мкМ) к 0,5 мкМ раствору рТФ (20,2 мкл или 10,1 мкл 49,4 мкМ рТФ) в 1 × буфере для анализа, фоновый гидролиз MUGB сначала измеряли за ~150-200 с до добавления FVIIa или варианта FVIIa до конечной концентрации 100-200 нМ по данным ELISA (пример 1.С.1) или титрования активных сайтов FFR-CMK (пример 3). За флуоресценцией высвобожденного 4-MU в фазе резкого подъема флуоресценции в реакции следовала дополнительная фаза 1000-1200 с. Стандартную кривую свободного 4-MU получали титрованием 1 × буфера, содержащего 0,5 мкмоль рТФ, 4-MU с калиброванной абсорбцией концентрацией шагами по 20 нМ до конечной концентрации 260-300 нМ.

Для анализа данных полученные результаты импортировали в пакет программного обеспечения GraphPad Prism, вклад фонового гидролиза вычитали из кривой путем экстраполяции начальной скорости спонтанного гидролиза MUGB, которая, как правило, составляла менее 5% от общего всплеска флуоресценции. Исправленную кривую аппроксимировали одноэкспоненциальным уравнением с линейным компонентом (для описания медленного деацилирования) вида Δфлуоресценции = $Amp(1-e^{-kt}) + Bt$, где Amp = амплитуда фазы всплеска флуоресценции в условиях насыщающего анализа, описанных выше, k представляет собой наблюдаемую константу скорости первого порядка образования ацил-фермента и B представляет собой общую константу скорости, связанную с полным превращением MUGB. Концентрацию активной протеазы FVIIa рассчитывали путем сравнения параметра аппроксимации для амплитуды со стандартной кривой 4-MU. Значения для нескольких анализов были измерены, усреднены и было определено стандартное отклонение.

Пример 13. Удельная активность вариантов полипептидов FVIIa для мезил-dFPR-ACC.

Для оценки активности вариантов FVIIa была определена активность (активность/моль) полипептидов FVIIa для расщепления трипептидного субстрата ACC (мезил-dFPR-ACC) при стандартных условиях анализа. Анализ включал преинкубацию полипептидов FVIIa с насыщающим количеством рТФ до разведения субстратом мезил-dFPR-ACC. В анализе определяли начальные скорости расщепления субстрата и увеличение флуоресценции ACC. Начальные скорости нарастания флуоресценции нормированы на внутреннюю стандартную кривую ACC и данные приводили в виде мкмоль/с/мкмоль FVIIa.

Для проведения реакций каждый тестируемый образец FVIIa разбавляли в полипропиленовом планшете для хранения до 200 нМ в 1 × буфере (20 мМ Hepes, 150 мМ NaCl, 5 мМ $CaCl_2$, 0,1% БСА, 0,1% ПЭГ-8000, pH 7,5). В случае необходимости готовили разведение исходного раствора FVIIa 1:10 таким

образом, чтобы минимальный отбираемый пипеткой объем составлял 5 мкл. Были приготовлены разведения исходного раствора растворимого тканевого фактора (рТФ) (R&D Systems) в конечной концентрации 1,0 мкМ в соответствующем объеме 1 × буфере для анализа, необходимом для исследования от 8 до 32 протеаз/планшет. Например, при исследовании 8 протеаз требовалось 1,0 мл 1,0 мкМ рТФ/планшет, тогда как для исследования 32 протеаз необходимо 2,5 мл рТФ/планшет. Были получены комплексы образцов FVIIa с рТФ в конечной концентрации 100 нМ FVIIa/500 нМ РТФ в объеме 50 мкл для анализа путем смешивания 25 мкл 200 нМ варианта FVIIa с 25 мкл 1,0 рТФ мкМ в полипропиленовом планшете для хранения. Комплексы FVIIa/рТФ затем инкубировали при комнатной температуре в течение 15 мин для достижения равновесия. После периода уравновешивания 10 мкл каждого комплекса FVIIa/рТФ внесли в соответствующий ряд лунок 96-луночного черного планшета для анализа формата half area (Costar). Варианты FVIIa и контроль исследовали в трех повторностях. Мезил-dFPR-ACC субстрат готовили в 1,1 × конечной концентрации 0,09 мМ с учетом разведения 1:10 полипептида FVIIa субстратом. В 96-луночном планшете формата half area было приготовлено 20 мл 0,1 мМ раствора мезил-dFPR-ACC субстрата в 1 × буфере для анализа путем разбавления исходного раствора субстрата в безводном ДМСО.

Анализ проводили на автоматизированной рабочей станции Biomek® FX (Beckman Coulter), оснащенной головкой с 96 носиками (MBP BioRobotix ART® 130 мкл советы). Планшеты для анализа (предварительно заполненные 10 мкл FVIIa/рТФ раствора) помещали на платформу рабочей станции с одноканальным резервуаром, заполненным 1,1 × раствором мезил-dFPR-ACC. Температуру планшетного спектрофотометра установили на 37°C. Станция Biomek® FX начинала анализ внесением 90 мкл 1,1 × субстрата мезил-dFPR-ACC из одноканального резервуара в каждую лунку черного планшета для анализа, содержащую 10 мкл FVIIa/рТФ.

Конечные концентрации вариантов FVIIa, рТФ и Мезил-dFPR-ACC в анализе составляли 10 нМ, 50 нМ и 0,09 мМ соответственно. Затем рабочая станция перемешивала 100 мкл образца, отбирая и сливая по 70 мкл два раза. Черный планшет для анализа перенесли в планшетный спектрофотометр SpectraMax Gemini (Molecular Devices) и измеряли начальную скорость реакции в течение 10 мин при 37°C.

После завершения анализа на том же планшетном спектрофотометре SpectraMax Gemini была определена флуоресценция в планшете, содержащем пробы для построения стандартной кривой свободного АСС (100 мкл/лунку), данные использовали для обеспечения точного преобразования единиц флуоресценции/с в мкМ/с. Стандартный планшет готовили следующим образом: во все "четные" лунки (т.е. в каждую вторую лунку) в верхнем ряду 96-луночного черного планшета для анализа формата half area 1 мМ образец АСС разбавляли до 25 нМ в 1 × буфере до конечного объема 200 мкл (5 мкл 1 мМ АСС в 195 мкл 1 × буфера для анализа). 100 мкл 1 × буфера вносили пипеткой во все остальные лунки "четных" колонок. Субстрат АСС серийно разводили 1:1 в лунках сверху вниз в колонке с получением еще 6 концентраций АСС. В последнем ряду лунки содержали только 100 мкл 1 × буфера (т.е. без АСС). Флуоресценцию измеряли с помощью определения конечной точки и строили график зависимости флуоресценции от концентрации АСС. Наклон линии, проходящей через эти точки, дает коэффициент перевода единиц флуоресценции в мкМ.

Для анализа данных, полученных с помощью планшетного спектрофотометра, а также построения стандартной кривой было использовано программное обеспечение SoftMax Pro (Molecular Devices). Файл, содержащий данные, был сохранен и экспортирован в виде ASCII текстового файла, который был импортирован в программу Microsoft Excel, обработан и проанализирован с использованием электронных таблиц Microsoft Excel. После импорта данных в электронные таблицы Microsoft Excel было осуществлено преобразование единиц флуоресценции в мкМ с помощью наклона стандартной кривой АСС, обеспечивающего коэффициент преобразования, которое перевело единицы флуоресценции/с в активность, измеряемую в мкМ/с. Все значения в трех повторностях были оценены на промахи, которые были исключены в случае необходимости. Удельную активность каждого варианта FVIIa и контроля дикого типа выражали в мкмоль/с/мкмоль и рассчитывали по следующим выражениям:

среднее значение (единицы флуоресценции/с)*коэффициент преобразования (единицы флуоресценции/мкМ) = активность (в мкМ/с);

удельная активность (в мкмоль/с/мкмоль) = [(мкм/с)*(100 мкл)*(1/1000000)]/[(10 нМ)*(100 мкл)*(1/1000000)*(1/1000)]

В табл. 28 приведена удельная активность проанализированных вариантов FVIIa, а также отношение активности к активности FVIIa дикого типа. Также включены стандартное отклонение (SD) и коэффициент вариации (в процентах; % CV). Несколько вариантов FVIIa проявили повышенную удельную активность для расщепления мезил-dFPR-ACC по сравнению с полипептидом FVIIa дикого типа. Например, Q366V-FVIIa проявлял удельную активность для расщепления мезил-dFPR-ACC, которая была в 4 раза больше, чем активность варианта FVIIa дикого типа. Варианты FVIIa, содержащие мутацию H373F, также обычно обладают повышенной удельной активностью для расщепления мезил-dFPR-ACC по сравнению с полипептидом FVIIa дикого типа.

Таблица 28

Удельная активность полипептидов FVIIa для мезил-dFPR-ACC

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Активность (мкмоль/сек/мкмоль)	Станда-ртное откло-нение	Коэф-фициент вариа-ции	Активность (% дикого типа)	N
Дикий тип (NovoSeven®)	Дикий тип (NovoSeven®)	2.31	0.34	0.15	100%	3
Дикий тип	Дикий тип	2.40	0.15	0.06	104%	4
T128N/P129A	T[128]N/P[129]A	2.50			108%	1
Замена Gla из FIX	Замена Gla из FIX	1.63			71%	1
A122N/G124S	A[122]N/G[124]S	2.24			97%	1
S52A/S60A	S[52]A/S[60]A	1.95			85%	1
V158D/E296V/ M298Q	V21D/E154V/ M156Q	3.28			142%	1
T128N/P129A/ V158D/E296V/ M298Q	T[128]N/P[129]A/ V21D/E154V/ M156Q	3.26			142%	1
S52A/S60A/V158D/ E296V/M1298Q	S[52]A/S[60]A/ V21D/E154V/ M156Q	2.56			111%	1
Q286R	Q143R	1.24			54%	1
T128N/P129A/ Q286R	T[128]N/P[129]A/ Q143R	1.21			52%	1
S52A/S60A/Q286R	S[52]A/S[60]A/ Q143R	0.44	0.11	0.25	19%	2
S222A	S82A	2.35			102%	1
T128N/P129A/ S222A	T[128]N/P[129]A/ S82A	2.70			117%	1
S52A/S60A/S222A	S[52]A/S[60]A/ S82A	1.22			53%	1
H257S	H117S	2.64			115%	1
H373F	H224F	1.17			51%	1
Q366V	Q217V	9.29			403%	1
Замена Gla из FIX/Q366V	Замена Gla из FIX/Q217V	2.82			122%	1
K109N/A175S	K[109]N/A39S	3.38			147%	1
Q286R/H257A	Q143R/H117A	1.96			85%	1
Замена Gla из FIX/ T128N/P129A/ S222A/Q286R	Замена Gla из FIX/ T[128]N/P[129]A/ S82A/Q143R	0.53			23%	1
Замена Gla из FIX/ S52A/S60A/S222A/ Q286R	Замена Gla из FIX/ S[52]A/S[60]A/ S82A/Q143R	0.44	0.42	0.96	19%	2
Q286R/M298Q	Q143R/M156Q	1.91	0.11	0.06	83%	5
Замена Gla из FIX/ Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX/ Q143R/M156Q	1.53			66%	1
T128N/P129A/Q286 R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/ Q143R/ M156Q	1.80			78%	1
Замена Gla из FIX /T128N/P129A/ Q286R/M298Q	Замена Gla из FIX /T[128]N/P[129]A/ Q143R/M156Q	0.78			34%	1
{Замена Gla из FIX/E40L}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/E[40]L}/ Q143R/M156Q	1.16			50%	1
{Замена Gla из FIX/K43I}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/K[43]I}/ Q143R/M156Q	1.20			52%	1
{Замена Gla из FIX/Q44S}/ Q286R/M298Q	{Замена Gla из FIX/Q[44]S}/ Q143R/M156Q	1.11			48%	1
{Замена Gla из	{Замена Gla из	1.26			55%	1

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Активность (мкмоль/сек/мкмоль)	Станда-ртное откло-нение	Коэф-фициент вариа-ции	Активность (% дикого типа)	N
FIX/M19K}/ Q286R/M298Q	FIX/M[19]K}/ Q143R/M156Q					
S52A/S60A/ Q286R/M298Q	S[52]A/S[60]A/ Q143R/ M156Q	1.08	0.17	0.15	47%	2
T128N/P129A/ S222A/H257A/ Q286R/M298Q	T[128]N/P[129]A/ S82A/H117A/ Q143R/M156Q	1.66			72%	1
S52A/S60A/S222A/ H257A/Q286R/ M298Q	S[52]A/S[60]A/ S82A/H117A/ Q143R/M156Q	0.98			42%	1
H257S/Q286R/ Q366V	H117S/Q143R/ Q217V	2.00	0.17	0.08	87%	2
S222A/H257A/ Q286R/ Q366V	S82A/H117A/ Q143R/Q217V	2.43			105%	1
Q286R/M298Q/ Q366N	Q143R/M156Q/ Q217N	2.35			102%	1
Q286R/H373F	Q143R/H224F	0.78			34%	1
T128N/P129A/ Q286R/H373F	T[128]N/P[129]A/ Q143R/H224F	2.31			100%	1
S52A/S60A/ Q286R/H373F	S[52]A/S[60]A/ Q143R/ H224F	3.14			136%	1
Q286R/M298Q/ H373F	Q143R/M156Q /H224F	4.59			199%	1
T128N/P129A/ Q286R/M298Q/ H373F	T[128]N/P[129]A/ Q143R/M156Q/ H224F	2.83			123%	1
S52A/S60A/Q286R/ M298Q/H373F	S[52]A/S[60]A/ Q143R/M156Q/ H224F	5.02			218%	1
M298Q/H373F	M156Q/H224F	4.00			174%	1
V21D/Q143R/ E154V/M156Q	V21D/Q143R/ E154V/M156Q	1.83			79%	1
S222A/T239V	S82A/T99V	1.91			83%	1
Замена Gla из FIX /S222A/T239V/ Q286R	Замена Gla из FIX /S82A/T99V/ Q143R	0.66			28%	1
T239V/Q286R/ M298Q	T99V/Q143R/ M156Q	1.74			75%	1

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Активность (мкмоль/сек/мкмоль)	Станда-ртное откло-нение	Коэф-фициент вариа-ции	Активность (% дикого типа)	N
Замена Gla из FIX/ T239V/Q286R/ M298Q	Замена Gla из FIX/ T99V/Q143R/ M156Q	1.13			49%	1
S222A/T239V/ H257A/Q286R/ M298Q	S82A/T99V/ H117A/Q143R/ M156Q	1.66			72%	1
T239V/Q286R/ H373F	T99V/Q143R/ H224F	1.53			66%	1
T239V/Q286R/ M298Q/H373F	T99V/Q143R/ M156Q/ H224F	3.07			133%	1
V158D/T239I/ E296V/M298Q	V21D/T99I/E154V /M156Q	2.24			97%	1
T239I/Q286R	T99I/Q143R	0.88			38%	1
S222A/T239I	S82A/T99I	1.36			59%	1
Замена Gla из FIX/S222A/T239I/ Q286R	Замена Gla из FIX /S82A/T99I/Q143R	0.25			11%	1
T239I/Q286R/ M298Q	T99I/Q143R/ M156Q	1.37			60%	1
Замена Gla из FIX / T239I/Q286R/ M298Q	Замена Gla из FIX /T99I/Q143R/ M156Q	0.67			29%	1
S222A/T239I/H257 A/Q286R/M298Q	S82A/T99I/H117A/ Q143R/M156Q	1.41			61%	1
T239I/Q286R/ H373F	T99I/Q143R/ H224F	1.24			54%	1
V158D/T239V/E29 6V/M298Q	V21D/T99V/E154 V/M156Q	2.19	0.15	0.07	95%	3
T239V/Q286R	T99V/Q143R	1.26	0.14	0.11	55%	2
T239I/Q286R/M298 Q/ H237F	T99I/Q143R/M156 Q/H224F	1.59	0.21	0.13	69%	3
H257S/Q286R/ M298Q	H117S/Q143R/ M156Q	1.85	0.23	0.13	80%	2
Замена Gla из FIX /Q286R/S222A/ H257S	Замена Gla из FIX /Q143R/S82A/ H117S	0.49	0.04	0.09	21%	2
S222A/H257S/ Q286R/ M298Q	S82A/H117S/ Q143R/M156Q	1.77	0.23	0.13	77%	2

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Активность (мкмоль/сек/мкмоль)	Станда-ртное откло-нение	Коэф-фициент вариа-ции	Активность (% дикого типа)	N
H257S/Q286R/ M298Q/ H373F	H117S/Q143R/ M156Q/H224F	2.32	0.41	0.18	101%	3
S222A/Q286R/ M298Q/H373F	S82A/Q143R/ M156Q/H224F	2.79	0.39	0.14	121%	2
Замена Gla из FIX/S222A/Q286R/ M298Q/H373F	Замена Gla из FIX/S82A/Q143R/ M156Q/H224F	1.92			83%	1
S222A/Q286R/ M298Q	S82A/Q143R/ M156Q	1.90			82%	1
Замена Gla из FIX/ S222A/Q286R/ M298Q	Замена Gla из FIX S82A/Q143R/ M156Q	1.12			49%	1
T128N/P129A/A175 S/Q366V	T[128]N/P[129]A/ A39S/Q217V	3.40			148%	1
A122N/G124S/A17 5S/Q366V	A[122]N/G[124]S/ A39S/ Q217V	2.34	0.22	0.09	101%	2
T128N/P129A/A175 S/S222A	T[128]N/P[129]A/ A39S/ S82A	3.19			138%	1
A122N/G124S/A17 5S/S222A	A[122]N/G[124]S/ A39S/ S82A	2.68	0.30	0.11	116%	2
T128N/P129A/A175 S/Q286R	T[128]N/P[129]A/ A39S/Q143R	1.88			81%	1
A122N/G124S/A17 5S/Q286R	A[122]N/G[124]S/ A39S/Q143R	2.16	0.42	0.20	94%	2
Замена Gla из FIX/ S222A/Q286R/ H373F	Замена Gla из FIX/ S82A/Q143R/ H224F	1.37	0.26	0.19	60%	2
V158D/E296V/M29 8Q/ H373F	V21D/E154V/M15 6Q/H224F	5.60			243%	1
H257A/Q286R/ M298Q	H117A/Q143R/ M156Q	2.18			95%	1
Замена Gla из FIX/ T128N/P129A/ A175S/S222A/ Q286R	Замена Gla из FIX/T[128]N/ P[129]A/A39S/ S82A/Q143R	0.75			32%	1
Замена Gla из FIX/ A122N/G124S/ A175S/S222A/ Q286R	Замена Gla из FIX/ A[122]N/G[124]S/ A39S/S82A/Q143R	0.89			38%	1

Мутация (по нумерации зрелого FVII)	Мутация (по нумерации химотрипсина)	Активность (мкмоль/сек/мкмоль)	Станда-ртное откло-нение	Коэф-фициент вариа-ции	Активность (% дикого типа)	N
T128N/P129A/ A175S/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/ A39S/Q143R/ M156Q	2.02			88%	1
A122N/G124S/ A175S/Q286R/ M298Q	A[122]N/G[124]S/ A39S/Q143R/ M156Q	3.03			131%	1
T128N/P129A/ A175S/S222A/ H257A/Q286R/ M298Q	T[128]N/P[129]A/ A39S/S82A/ H117A/Q143R /M156Q	2.18			95%	1
A122N/G124S/ A175S/S222A/ H257A/Q286R/ M298Q	A[122]N/G[124]S/ A39S/S82A/H117 A/Q143R/M156Q	1.99			86%	1
T128N/P129A/ A175S/Q286R/ M298Q/H373F	T[128]N/P[129]A/ A39S/Q143R/ M156Q/H224F	2.78			121%	1
A122N/G124S/ A175S/Q286R/ M298Q/H373F	A[122]N/G[124]S/ A39S/Q143R/ M156Q/H224F	2.71			118%	1
V158D/Q286R/ E296V/M298Q/ H373F	V21D/Q143R/ E154V/M156Q/ H224F	1.89			82%	1

Пример 15. Активация FX и определение концентрации каталитически активных протеаз с использованием титранта активных сайтов флуоресцеин-моно-р'-гуанидинобензоата (FMGB).

Концентрацию фактора X (FX), который способен стать каталитически активным, определяли в исходном растворе зимогена путем активации образцов FX ядом гадюки Рассела (RVV-азой), а затем путем титрования активного фактора X (FXa) флуоресцеин-моно-р'-гуанидинобензоатом (FMGB), флуорогенным эфирным субстратом, титрантом активных сайтов для трипсиноподобных сериновых протеаз. После активации титрование активных сайтов было проведено, как описано в работе Воск и др., (Archives of Biochemistry and Biophysics (1989) 273:375-388) с небольшими изменениями. FMGB легко реагирует с FXa, но не с FX или неактивной протеазой, с образованием стабильного ацил-ферментного интермедиата при насыщающей концентрации FMGB и медленном деацилировании, что ограничивает скорость катализа. В этих условиях протеаза FXa осуществляет один оборот катализа, высвобождая флуоресцеиновый флуорофор. Если первоначальный подъем флуоресценции сопоставить со стандартной кривой зависимо-

сти флуоресценции от концентрации флуоресцеина, может быть рассчитана концентрация активных центров.

Реакцию активации FXa проводили при конечной концентрации FX 10 мкМ (по абсорбции A280 с коэффициентом экстинкции 1,16) в конечном объеме 50-100 мкл в реакционном буфере, содержащем 100 мМ Трис, 50 мМ NaCl, 5 мМ $CaCl_2$, 0,1% ПЭГ 8000, pH 8,1. Активацию инициировали добавлением яда гадюки Рассела в конечной концентрации 5 мкг/мл (5 мкл 98 мкг/мл разведения на 100 мкл реакционной смеси или 2,5 мкл на 50 мкл реакционной смеси) при 37°C в течение 45-60 мин (необходимое для полной активации время ранее определили путем отбора образцов каждые 15 мин и тестирования увеличения расщепления флуорогенного субстрата Spectrafluor FXa). В реакционную смесь быстро добавили 1/10 объема буфера, содержащего 100 мМ Трис, 50 мМ NaCl, 5 мМ, 100 мМ ЭДТА, 0,1% ПЭГ 8000, pH 8,1.

Анализы проводили в реакционном объеме 1 мл в 0,4 см × 1 см кварцевой кювете при постоянном перемешивании. Реакционная смесь содержала 100-400 нМ свежеактивированного FXa и 5 мкМ FMGB в буфере, содержащем 30 мМ Hepes, 135 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА и 0,1% ПЭГ 8000, pH 7,4. Стандартный раствор флуоресцеина приготовили в исходной концентрации 70 мМ в ДМФА, значение концентрации подтверждали измерением абсорбции в стандартных условиях при 496 нм, используя коэффициент экстинкции 89125 M^{-1} $см^{-1}$ в 0,1 н NaOH. FMGB приготовили в исходной концентрации 0,01М в ДМФА из сухого вещества, значение концентрации подтверждали измерением абсорбции в стандартных условиях при 452 нм, используя коэффициент экстинкции 19498 в фосфатно-солевом буфере (PBS), pH 7,2. Анализы начинали добавлением 5 мкл 1 мМ FMGB (конечная концентрация 5 мкМ) в 1 × буфере и измеряли фоновый гидролиз FMGB в течение ~150-200 с перед добавлением FXa в конечной концентрации 100-400 нМ, начальную концентрацию определяли по поглощению до активации RVV-азой (см. выше). За флуоресценцией высвобожденного флуоресцеина в фазе резкого подъема флуоресценции в реакции следовала дополнительная фаза 3600 с. Стандартную кривую свободного флуоресцеина получали титрованием 1 × буфера стандартным флуоресцеином шагами по 20 нМ до конечной концентрации 260-300 нМ.

Для анализа данных полученные результаты импортировали в пакет программного обеспечения GraphPad Prism, вклад фонового гидролиза вычитали из кривой путем экстраполяции начальной скорости спонтанного гидролиза FMGB, которая, как правило, составляла менее 5% от общего всплеска флуоресценции. Исправленную кривую аппроксимировали одноэкспоненциальным уравнением с линейным компонентом (для описания медленного деацилирования) вида Δфлуоресценции = $Amp(1-e^{-kt}) + Bt$, где Amp = амплитуда фазы всплеска флуоресценции в условиях насыщающего анализа, описанных выше, k представляет собой наблюдаемую константу скорости первого порядка образования ацил-фермента и B представляет собой общую константу скорости, связанную с полным превращением FMGB. Концентрацию активной протеазы FXa рассчитывали путем сравнения параметра аппроксимации для амплитуды со стандартной кривой флуоресцеина. Значения для нескольких анализов были измерены, усреднены и было определено стандартное отклонение. Поэтому количество активного FXa в пробе непосредственно представляет собой концентрацию FX в исходном растворе, который может быть активирован фактором FVIIa. Значение, полученное титрованием активных сайтов, использовали при расчете концентрации FX, который использовали в непрямом анализе, таком как ТФ-зависимый и ТФ-независимый анализ, описанный в примере 4.

Если изменения в изобретении очевидны специалистам в данной области, предполагается, что изобретение ограничено только приведенной ниже формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Модифицированный полипептид фактора VII (FVII), включающий модификации в полипептиде FVII, где

модификации осуществляют в положениях, соответствующих положениям 286 и 298 в полипептиде FVII с последовательностью аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 3, или в соответствующих положениях в полипептиде FVII,

модификация в положении 286 представляет собой замену аминокислоты на аргинин (Arg, R);

модификация в положении 298 представляет собой замену аминокислоты на глютамин (Gln, Q) и

модифицированный полипептид FVII обладает повышенной коагулянтной активностью по сравнению с полипептидом FVII, немодифицированным в положениях 286 и 298.

2. Модифицированный полипептид FVII по п.1, где модификация в положении 286 представляет собой замену Gln (Q) на Arg (R).

3. Модифицированный полипептид FVII по п.1, где модификация в положении 298 представляет собой замену Met (M) на глютамин (Gln, Q).

4. Модифицированный полипептид FVII по п.1, содержащий модификации Q286R и M298Q.

5. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-4, где немодифицированный полипептид FVII содержит последовательность аминокислот, приведенную в любой из SEQ ID NO: 1-3, 18-74, 98, 158 или 343-353, или представляет собой ее аллельный или видовой вариант, или вариант, обладающий по меньшей мере 60% идентичностью с последовательностью FVII из любой последовательности

SEQ ID NO: 1-3, 18-74, 98, 158 или 343-353, или представляет собой активный фрагмент полипептида FVII, который включает последовательность аминокислот, приведенную в любой из последовательностей SEQ ID NO: 1-3, 18-74, 98, 158 или 343-353.

6. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-5, содержащий одну или несколько дополнительных модификаций в другом положении в полипептиде FVII.

7. Модифицированный полипептид FVII по п.6, где дополнительная модификация представляет собой замену аминокислоты в положении, соответствующем положению, выбранному из 51, 52, 54, 60, 66, 68, 109, 119, 122, 124, 130, 132, 158, 161, 175, 196, 197, 199, 202, 216, 222, 237, 239, 257, 286, 287, 290, 292, 294, 296, 305, 314, 318, 321, 337, 341, 366, 373, 374, 394, 395 и 396.

8. Модифицированный полипептид FVII по п.6, в котором дополнительная модификация аминокислоты выбрана из

D196K, D196R, D196A, D196Y, D196F, D196W, D196L, D196I, K197Y, K197A, K197E, K197D, K197L, K197M, K197I, K197V, K197F, K197W, K199A, K199D, K199E, G237W, G237T, G237I, G237V, T239A, R290A, R290E, R290D, R290N, R290Q, R290K, R290M, R290V, K341E, K341R, K341Q, K341N, K341M, K341D, G237T238вставкаA, G237T238вставкаS, G237T238вставкаV, G237T238вставкаAS, G237T238вставкаSA, D196K197вставкаK, D196K197вставкаR, D196K197вставкаY, D196K197вставкаW, D196K197вставкаA, D196K197вставкаM, K197I198вставкаE, K197I198вставкаY, K197I198вставкаA, K197I198вставкаS, T239S, T239N, T239Q, T239V, T239L, T239H, T239I, L287T, M298Q, P321K, P321E, P321Y, P321S, Q366D, Q366E, Q366N, Q366T, Q366S, Q366V, Q366I, Q366L, Q366M, H373D, H373E, H373S, H373L, H373I, H373F, H373A, K161S, K161A , K161V, H216S, H216A, H216K, H216R, S222A, S222K, S222V, S222N, S222E, S222D, H257A, H257S, замена Gla из FIX, {замена Gla из FIX/E40L}, {замена Gla из FIX/K43I}, {замена Gla из FIX/Q44S}, {замена Gla из FIX/M19K}, {замена Gla из FIX/M19K/E40L/K43I/Q44S}, замена Gla из FX, замена Gla из белка C, замена Gla из белка S, замена Gla из тромбина, S52A, S60A, E394N, P395A, R396S, R202S, A292N, A294S, G318N, A175S, K109N, A122N, G124S, A51N, T130N, E132S, S52N, P54S, S119N, L121S, T128N, P129A, Q66N, Y68S, S103S111удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,
H115S126удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,
T128P134удаление/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF,
S103S111удаление/вставкаIEDICLPRWGCLWE,
H115S126удаление /вставкаIEDICLPRWGCLWE,
T128P134удаление/ вставкаIEDICLPRWGCLWE,
S103S111удаление/ вставкаDICLPRWGCLWED,
H115S126удаление/ вставкаDICLPRWGCLWED,
T128P134удаление/ вставкаDICLPRWGCLWED, P406вставкаIEDICLPRWGCLW,
P406вставкаGGGSIEDICLPRWGCLW, P406вставкаDICLPRWGCLWED,
P406вставкаGGGSDICLPRWGCLWED, S103S111удаление/ вставкаSFGRGDIRNV,
H115S126удаление/ вставкаSFGRGDIRNV, T127P134удаление/вставкаSFGRGDIRNV,
P406вставкаCSFGRGDIRNVC, P406вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC, V158T, V158D,
L287T и E296V.

9. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.6-8, включающий модификации, выбранные из

Q286R/M298Q/K341Q, Q286R/M298Q/K199E,
Q286R/M298Q/Замена Gla из FIX, S222A/H257A/Q286R/M158Q, Q286R/M298Q/Q366D,

Q286R/M298Q/Q366N, Q286R/M298Q/H373F, {Замена Gla из FIX/E40L}/Q286R/M298Q, {Замена Gla из FIX/K43I}/Q286R/M298Q, {Замена Gla из FIX/Q44S}/Q286R/M298Q, {Замена Gla из FIX/M19K}/Q286R/M298Q, {Замена Gla из FIX/M19K/E40L/K43I/Q44S}/Q286R/M298Q, T128N/P129A/Q286R/M298Q, V158D/Q286R/E296V/M298Q, замена Gla из FIX/T128N/P129A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/S222A/H257A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/Q286R/M298Q/H373F, S52A/S60A/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/S52A/S60A/Q286R/M298Q, S52A/S60A/S222A/H257A/Q286R/M298Q, S52A/S60A/Q286R/M298Q/H373F, T239V/Q286R/M298Q, S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/T239V/Q286R/M298Q, T239V/Q286R/M298Q/H373F, T239I/Q286R/M298Q, S222A/T239I/H257A/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/T239I/Q286R/M298Q, T239I/Q286R/M298Q/H373F, замена Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q/H373F, VI58D/Q286R/E296V/M298Q/H373F, H257A/Q286R/M298Q, H257S/Q286R/M298Q, S222A/H257S/Q286R/M298Q, H257S/Q286R/M298Q/H373F, S222A/Q286R/M298Q/H373F, S222A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q, A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q, T128N/P129A/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q, A122N/G124S/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q, Tl28N/P129A/A175S/Q286R/M298Q/H373F, A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q/H373F, {Замена Gla из FIX /K43I}/T128N/P129A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N, {замена Gla из FIX /K43I}/Q286R/M298Q/Q366N, {замена Gla из FIX /K43I}/T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N, V158D/Q286R/E296V/M298Q, T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N/H373F, T239V/Q286R/M298Q/Q366N, T239I/Q286R/M298Q/Q366N, T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q, T128N/P129A/S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q/H373F, T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q и T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q/H373F.

10. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.6-11, включающий модификации, выбранные из

T128N/P129A/Q286R/M298Q,

T239I/Q286R/M298Q/Q366N, T239V/Q286R/M298Q/Q366N,

T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N/H373F, V158D/Q286R/E296V/M298Q/H373F,

A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q/H373F,

T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q/H373F,

A122N/G124S/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q,

T128N/P129A/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q,

A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q, T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q,

H257A/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q,

S222A/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/ S222A/Q286R/M298Q/H373F,

S222A/Q286R/M298Q/H373F, S222A/H257S/Q286R/M298Q,

T239I/Q286R/M298Q/H373F, S222A/T239I/H257A/Q286R/M298Q,

T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX /T239I/Q286R/M298Q,

T239I/Q286R/M298Q, Q286R/M298Q,

T128N/P129A/S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q,

S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q,

замена Gla из FIX/T239V/Q286R/M298Q, V158D/Q286R/E296V/M298Q,

T128N/P129A/Q286R/M298Q/H373F, Q286R/M298Q/H373F,

{замена Gla из FIX K[43]I}/T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N,

{замена Gla из FIX K[43]I}/Q286R/M298Q/Q366N, Q286R/M298Q/Q366N,

S52A/S60A/S222A/H257A/Q28R/M2986Q,

T128N/P129A/S222A/H257A/Q286R/M2986Q, S222A/H257A/Q286R/M298Q,

{замена Gla из FIX/K[43]I}/T128N/P129A/Q286R/M298Q,

замена Gla из FIX/S52A/S60A/Q286R/M298Q, S52A/S60A/Q286R/M298Q, {замена Gla

из FIX/M[19]K}/Q286R/M298Q, {замена Gla из FIX/Q[44]S}/Q286R/M298Q,

{замена Gla из FIX/K[43]I}/Q286R/M298Q,

{замена Gla из FIX/E[40]L}/Q286R/M298Q,

замена Gla из FIX/T128N/P129A/Q286R/M298Q и Q143R/M286Q/замена Gla из FIX.

11. Модифицированный двухцепочечный активированный полипептид фактора VII (FVIIa), включающий аминокислотные замены, соответствующие положениям 128, 129, 286 и 289 в SEQ ID NO: 3, где

аминокислота в положении 128 заменена на аспарагин (N), аминокислота в положении 129 заменена на аланин (A), аминокислота в положении 286 заменена на аргинин (R) и аминокислота в положении 298 заменена на глутамин (Q),

модифицированный полипептид FVIIa включает аминокислотную последовательность, по крайней мере на 85 или 90% идентичную последовательности полипептида, приведенной в SEQ ID NO:3; и

модифицированный полипептид FVIIa обладает прокоагулянтной активностью.

12. Модифицированный полипептид фактора VII (FVII), состоящий из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 280.

13. Модифицированный двухцепочечный активированный полипептид фактора VII (FVIIa), состоящий из аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 280, расщепленной между аргинином в положении 152 и изолейцином в положении 153.

14. Модифицированный полипептид FVIIa по п.11, где полипептид включает аминокислотную последовательность, по крайней мере на 95% идентичную последовательности полипептида, приведенной в SEQ ID NO:3.

15. Активированный модифицированный полипептид фактора VII (FVIIa) по п.11, в котором аминокислотная последовательность легкой цепи модифицированного FVIIa по крайней мере на 95% идентична аминокислотной последовательности на участке 1-152 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:280, и включает аминокислотные замены в положениях 128 и 129.

16. Активированный модифицированный полипептид фактора VII (FVIIa) по п.11, в котором аминокислотная последовательность тяжелой цепи модифицированного FVIIa по крайней мере на 95% идентична аминокислотной последовательности на участке 153-406 последовательности, приведенной в SEQ ID NO:280, и включает аминокислотные замены в положениях 286 и 298.

17. Модифицированный полипептид фактора VII (FVII), в котором полипептид FVII включает только 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 замен аминокислот в полипептиде FVII дикого типа, имеющем аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO: 3 или в его аллельном или видовом варианте, или в полипептиде с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 3, содержащем гетерологичный Gla домен вместо Gla домена последовательности SEQ ID NO: 3;

одна замена аминокислоты находится в положении, соответствующем положению 286 в полипептиде FVII с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 3, или в соответствую-

щем положении в полипептиде FVII, и

замена в положении 286 представляет собой замену на аргинин (Arg, R), что приводит к модифицированному полипептиду FVII, обладающему повышенной коагулянтной активностью по сравнению с полипептидом FVII, немодифицированным в положении 286.

18. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-17, где немодифицированный полипептид FVII содержит последовательность аминокислот, приведенную в любой из SEQ ID NO: 1-3 или 18-74, или представляет собой его аллельный или видовой вариант, или представляет собой активный фрагмент полипептида FVII, включающий последовательность аминокислот, приведенную в любой из последовательностей SEQ ID NO: 1-3 или 18-74.

19. Модифицированный полипептид FVII по п.18, где модифицированный полипептид FVII представляет собой активный фрагмент, включающий замену аминокислоты в положении, соответствующем положению 286 в полипептиде FVII.

20. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.17-19, в котором замена аминокислоты, в дополнение к замене 286R, находится в положении, соответствующем положению, выбранному из 51, 52, 54, 60, 66, 68, 109, 119, 122, 124, 130, 132, 158, 161, 175, 196, 197, 199, 202, 216, 222, 237, 239, 257, 286, 287, 290, 292, 294, 296, 298, 305, 314, 318, 321, 337, 341, 366, 373, 374, 394, 395 и 396.

21. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.17-20, включающий замену аминокислот, выбранную из

D196K, D196R, D196A, D196Y, D196F, D196W,
D196L, D196I, K197Y, K197A, K197E, K197D, K197L, K197M, K197I, K197V, K197F,
K197W, K199A, K199D, K199E, G237W, G237T, G237I, G237V, T239A, R290A, R290E,
R290D, R290N, R290Q, R290K, R290M, R290V, K341E, K341R, K341Q, K341N, K341M,
K341D, T239S, T239N, T239Q, T239V, T239L, T239H, T239I, L287T, M298Q, P321K,
P321E, P321Y, P321S, Q366D, Q366E, Q366N, Q366T, Q366S, Q366V, Q366I, Q366L,
Q366M, H373D, H373E, H373S, H373L, H373I, H373F, H373A, K161S, K161A, K161V,
H216S, H216A, H216K, H216R, S222A, S222K, S222V, S222N, S222E, S222D, H257A,
H257S, S52A, S60A, E394N, P395A, R396S, R202S, A292N, A294S, G318N, A175S, K109N,
A122N, G124S, A51N, T130N, E132S, S52N, P54S, S119N, L121S, T128N, P129A, Q66N,
Y68S, V158T, V158D, L287T, E296V, M298K и M298Q.

22. Модифицированный полипептид FVII по п.21, включающий замены аминокислот, выбранные из
Q286R/H257A, Q286R/S222A, Q286R/S222A/H257A,
Q286R/S222A/замена Gla из FIX, Q286R/H257A/замена Gla из FIX,
Q286R/S222A/H257A/замена Gla из FIX, Q286R/Q366V, Q286R/A292N/A294S/Q366V,
A175S/Q286R/Q366V, S222A/Q286R/Q366V, H257S/Q286R, H257S/Q286R/Q366V,
S222A/H257A/Q286R/Q366V, Q286R/H373A, S222A/H257A/Q286R/M158Q,
Q286R/K341D, Q286R/Q366D, Q286R/Q366N, Q286R/H373F, T128N/P129A/Q286R,
T128N/P129A/Q286R/H373F, S52A/S60A/Q286R, S52A/S60A/Q286R/H373F/,
T239V/Q286R, T239V/Q286R/H373F, T239I/Q286R/H373F,
V158D/Q286R/E296V/M298Q/H373F, T128N/P129A/A175S/Q286R,
A122N/G124S/A175S/Q286R, T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q/H373F.

23. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-10, включающий замены аминокислот, выбранные из

T128N/P129A/Q286R/M298Q,
T239I/Q286R/M298Q/Q366N,T239V/Q286R/M298Q/Q366N,
T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N/H373F, V158D/Q286R/E296V/M298Q/H373F,

A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q/H373F,

T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q/H373F,

A122N/G124S/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q,

T128N/P129A/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q,

A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q, T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q,

H257A7Q286R/M298Q, S222A/Q286R/M298Q, S222A/Q286R/M298Q/H373F,

S222A/H257S/Q286R/M298Q, T239I/Q286R/M298Q/H373F,

S222A/T239I/H257A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q,

T239I/Q286R/M298Q, T128N/P129A/S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q,

S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q, T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q,

V158D/Q286R/E296V/M298Q, T128N/P129A/Q286R/M298Q/H373F,

Q286R/M298Q/H373F, Q286R/M298Q/Q366N,

S52A/S60A/S222A/H257A/Q28R/M2986Q,

T128N/P129A/S222A/H257A/Q286R/M2986Q, S22A/H257A/Q286R/M298Q.

24. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-23, включающий аминокислотную последовательность, приведенную в любой из SEQ ID NOS: 118, 131-141-155, 157, 274-282, 285-288, 290, 292-297, 299, 301-306, 308, 310-314, 316-318, 321-326, 328, 334-342, 355-358, 360 или 364-371.

25. Модифицированный полипептид FVII, включающий модификацию в полипептиде FVII, где модификация введена в положение, соответствующее положению, выбранному из 54, 66, 121, 122, 129 и 132 в полипептиде FVII с последовательностью аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 3, или в соответствующих остатках в полипептиде FVII.

26. Модифицированный полипептид FVII по п.25, в котором модификация выбрана из P54S, Q66N, L121S, A122N, P129A и E132S.

27. Модифицированный полипептид FVII, включающий модификацию в полипептиде FVII, где модификация соответствует модификации, выбранной из T239S, T239Q, T239V, T239L, T239H, T239I, P321K, P321E, P321Y, P321S, Q366D, Q366N, Q366V, Q366I, Q366L, Q366M, H373D, H373E, H373S, H373F, H373A, K161S, K161V, H216S, H216K, H216R, S222A, S222K, S222V, S222D, S222N, S222E и H247S в полипептиде FVII с последовательностью аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 3, или в соответствующих остатках в полипептиде FVII.

28. Модифицированный полипептид FVII, включающий две или более модификаций в полипептиде FVII, его аллельном или видовом варианте или его активном фрагменте, в котором две или более модификаций аминокислот выбраны из модификаций, соответствующих H216A, H257A, E394N, P395A, R396S, K109N, A292N, A175S, H257A и замене Gla из FIX.

29. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-28, который является активным или активированным.

30. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-29, включающий гетерологичный домен Gla или его часть, достаточную для осуществления связывания фосфолипидов.

31. Модифицированный полипептид FVII по п.30, в котором гетерологичный домен Gla выбран из домена Gla фактора IX (FIX), фактора X (FX), протромбина, белка C, белка S, остеокальцина, белка Gla матрикса, Growth-arrest-specific белка 6 (Gas6) и белка Z.

32. Модифицированный полипептид FVII по п.30 или 31, в котором гетерологичный домен Gla имеет последовательность аминокислот, приведенную в любой из SEQ ID NO: 83-91, 93 и 94, или ее часть, достаточную для осуществления связывания фосфолипидов.

33. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.30-32, в котором весь нативный домен Gla FVII или его непрерывную часть удаляли и заменяли гетерологичным доменом Gla, или его частью, достаточной для осуществления связывания фосфолипидов.

34. Модифицированный полипептид FVII по п.33, в котором нативный домен Gla FVII включает аминокислоты 1-45 в полипептиде FVII с последовательностью аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 3, или соответствующие остатки в полипептиде FVII.

35. Модифицированный полипептид FVII по пп.30-34, в котором гетерологичный домен Gla содержит модификации по сравнению с гетерологичным доменом Gla дикого типа.

36. Модифицированный полипептид FVII по п.32, в котором гетерологичный домен Gla представляет собой домен Gla FIX и модификация представляет собой замену аминокислоты в положении, соответствующем положению, выбранному из 19, 40, 43 и 44 домена Gla FIX, приведенного в SEQ ID NO: 83.

37. Модифицированный полипептид FVII по п.33, в котором модификация выбрана из M19K, E40L, K43I и Q44S.

38. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.35-37, в котором гетерологичный домен Gla содержит дополнительные модификации.

39. Модифицированный полипептид FVII по п.38, в котором гетерологичный домен Gla представляет собой домен Gla FIX и дополнительная модификация представляет собой замену аминокислоты в положении, соответствующем положению 19, 40, 43 и 44 домена Gla FIX, приведенного в SEQ ID NO: 83.

40. Модифицированный полипептид FVII по п.38 или 39, в котором дополнительная модификация выбрана из M19K, E40L, K43I и Q44S.

41. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.35-37, в котором модификация представляет собой M19K/E40L/K43I/Q44S.

42. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.30-41, включающий модификации, выбранные из

Q286R/замена Gla из FIX, Q286R/S222A/замена Gla из FIX,

Q286R/H257A/замена Gla из FIX, Q286R/S222A/H257A/замена Gla из FIX, Q286R/M298Q/замена Gla из FIX, {замена Gla из FIX/E40L}/Q286R/M298Q, {замена Gla из FIX/K43I}/Q286R/M298Q, {замена Gla из FIX/Q44S}/Q286R/M298Q,

{замена Gla из FIX/M19K}/Q286R/M298Q,

{замена Gla из FIX/M19K/E40L/K43I/Q44S}/Q286R/M298Q,

замена Gla из FIX/T128N/P129A/S222A/Q286R,

замена Gla из FIX/T128N/P129A/Q286R/M298Q,

замена Gla из FIX/S52A/S60A/S222A/Q286R,

замена Gla из FIX/S52A/S60A/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/S222A/T239V/Q286R, замена Gla из FIX/T239V/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/S222A/T239I/Q286R, замена Gla из FIX/T239I/Q286R/M298Q, замена Gla из FIX/S222A/Q286R/H373F, замена Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q, замена Gla FIX/S222A/Q286R/M298Q/H373F, замена Gla из FIX/S222A/H257S/Q286R, замена Gla из FIX/T128N/P129A/A175S/S222A/Q286R, замена Gla из FIX/A122N/G124S/A175S/S222A/Q286R, {замена Gla из FIX /K43I}/T128N/P129A/Q286R/M298Q, {замена Gla из FIX /K43I}/Q286R/M298Q/Q366N and {замена Gla из FIX /K43I}/ T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N.

43. Модифицированный полипептид FVII по пп.1-42, включающий одну или более дополнительных модификаций аминокислоты (аминокислот), которые повышают устойчивость к антитромбину-III, увеличивают связывание и/или аффинность к фосфолипидам, повышают аффинность к тканевому фактору, увеличивают собственную активность, увеличивают ТФ-зависимую активность, увеличивают коагулянтную активность, изменяют конформацию полипептида для изменения зимогенности, увеличивают каталитическую или коагулянтную активность, сдвигая равновесие между высокоактивной и менее активной конформацией FVIIa в пользу высокоактивных конформаций, повышают устойчивость к протеазам, уменьшают гликозилирование, увеличивают гликозилирование, снижают иммуногенность, повышают устойчивость и/или способствуют химическому связыванию групп.

44. Модифицированный полипептид FVII по пп.1-43, включающий одну или более дополнительных модификаций аминокислоты (аминокислот), выбранных из

S279C/V302C, L280C/N301C, V281C/V302C, S282C/V299C, вставки тирозина в положение 4, F4S, F4T, P10Q, P10E, P10D, P10N, Q21N, R28F, R28E, I30C, I30D, I30E, K32D, K32Q, K32E, K32G, K32H, K32T, K32C, K32A, K32S, D33C, D33F, D33E, D33K, A34C, A34E, A34D, A34I, A34L, A34M, A34V, A34F, A34W, A34Y, R36D, R36E, T37C, T37D, T37E, K38C, K38E, K38T, K38D, K38L, K38G, K38A, K38S, K38N, K38H, L39E, L39Q, L39H, W41N, W41C, W41E, W41D, I42R, I42N, I42S, I42A, I42Q, I42N, I42S, I42A, I42Q, I42K, S43Q, S43N, Y44K, Y44C, Y44D, Y44E, S45C, S45D, S45E, D46C, A51N, S53N, G58N, G59S, G59T, K62E, K62R, K62D, K62N, K62Q, K62T, L65Q, L65S, L65N, F71D, F71Y, F71E, F71Q, F71N, P74S, P74A, A75E, A75D, E77A, E82Q, E82N, E82S, E82T T83K, N95S, N95T, G97S, G97T, Y101N, D104N, T106N, K109N, E116D, G117N, G124N, S126N, T128N, L141C, L141D, L141E, E142D, E142C, K143C , K143D, K143E, R144E, R144C, R144D, N145Y, N145G, N145F, N145M, N145S, N145I, N145L, N145T, N145V, N145P, N145K, N145H, N145Q, N145E, N145R, N145W, N145D, N145C, K157V, K157L , K157I, K157M, K157F, K157W, K157P, K157G, K157S, K157T, K157C, K157Y, K157N, K157E, K157R, K157H, K157D, K157Q, V158L, V158I, V158M, V158F, V158W, V158P, V158G, V158S, V158T , V158C, V158Y, V158N, V158E, V158R, V158K, V158H, V158D, V158Q, A175S, A175T, G179N, I186S, I186T, V188N, R202S, R202T, I205S, I205T, D212N, E220N, I230N, P231N, P236N, G237N, Q250C, V253N, E265N, T267N, E270N, A274M, A274L, A274K, A274R, A274D, A274V, A274I, A274F, A274W, A274P, A274G, A274T, A274C, A274Y, A274N, A274E, A274H, A274S, A274Q, F275H, R277N, F278S, F278A. F278N, F278Q, F278G, L280N, L288K, L288C, L288D, D289C, D289K, L288E, R290C, R290G, R290A, R290S, R290T, R290K, R290D, R290E, G291E, G291D, G291C, G291N, G291K, A292C, A292K, A292D, A292E, T293K, E296V, E296L, E296I, E296M, E296F, E296W, E296P, E296G, E296S, E296T, E296C, E296Y, E296N, E296K, E296R, E296H, E296D, E296Q, M298Q, M298V, M298L, M298I, M298F, M298W, M298P, M298G, M298S, M298T, M298C, M298Y, M298N, M298K, M298R, M298H, M298E, M298D, P303S, P303T, R304Y, R304F, R304L, R304M, R304G, R304T, R304A, R304S, R304N, L305V, L305Y, L305I, L305F, L305A, L305M, L305W, L305P, L305G, L305S, L305T, L305C, L305N, L305E, L305K,

L305R, L305H, L305D, L305Q, M306D, M306N, D309S, D309T, Q312N, Q313K, Q313D, Q313E, S314A, S314V, S314I, S314M, S314F, S314W, S314P, S314G, S314L, S314T, S314C, S314Y, S314N, S314E, S314K, S314R, S314H, S314D, S314Q, R315K, R315G, R315A, R315S, R315T, R315Q, R315C, R315D, R315E, K316D, K316C, K316E, V317C, V317K, V317D, V317E, G318N, N322Y, N322G, N322F, N322M, N322S, N322I, N322L, N322T, N322V, N322P, N322K, N322H, N322Q, N322E, N322R, N322W, N322C, G331N, Y332S, Y332A, Y332N, Y332Q, Y332G, D334G, D334E, D334A, D334V, D334I, D334M, D334F, D334W, D334P, D334L, D334T, D334C, D334Y, D334N, D334K, D334R, D334H, D334S, D334Q, S336G, S336E, S336A, S336V, S336I, S336M, S336F, S336W, S336P, S336L, S336T, S336C, S336Y, S336N, S336K, S336R, S336H, S336D, S336Q, K337L, K337V, K337I, K337M, K337F, K337W, K337P, K337G, K337S, K337T, K337C, K337Y, K337N, K337E, K337R, K337H, K337D, K337Q, K341E, K341Q, K341G, K341T, K341A, K341S, G342N, H348N, R353N, Y357N, I361N, F374P, F374A, F374V, F374I, F374L, F374M, F374W, F374G, F374S, F374T, F374C, F374Y, F374N, F374E, F374K, F374R, F374H, F374D, F374Q, V376N, R379N, L390C, L390K, L390D, L390E, M391D, M391C, M391K, M391N, M391E, R392C, R392D, R392E, S393D, S393C, S393K, S393E, E394K, P395K, E394C, P395D, P395C, P395E, R396K, R396C, R396D, R396E, P397D, P397K, P397C, P397E, G398K, G398C, G398D, G398E, V399C, V399D, V399K, V399E, L400K, L401K, L401C, L401D, L401E, R402D, R402C, R402K, R402E, A403K, A403C, A403D, A403E, P404E, P404D, P404C, P404K, F405K, P406C, K32N/A34S, K32N/A34T, F31N/D33S, F31N/D33T, I30N/K32S, I30N/K32T, A34N/R36S, A34N/R36T, K38N/F40S, K38N/F40T, T37N/L39S, T37N/L39T, R36N / K38S, R36N/K38T, L39N/W41S, L39N/W41T, F40N/I42S, F40N/I42T, I42N/Y44S, I42N/Y44T, Y44N/D46S, Y44N/D46T, D46N/D48S, D46N/D48T, G47N/Q49S, G47N/Q49T, K143N / N145S, K143N / N145T, E142N/R144S, E142N/R144T, L141N/K143S, L141N/K143T, I140N / E142S, I140N/E142T, R144N/A146S, R144N/A146T, A146N/K148S, A146N/K148T, S147N/P149S/, S147N/P149T, R290N/A292S, R290N/A292T, D289N/G291S, D289N/G291T, L288N / R290S, L288N/R290T, L287N/D289S, L287N/D289T, A292N/A294S, A292N/A294T, T293N/L295S, T293N/L295T, R315N/V317S, R315N/V317T, S314N/K316S, S314N/K316T, Q313N/R315S, Q313N/R315T, K316N/G318S, K316N/G318T, V317N/D319S, V317N/D319T, K341N/D343S, K341N/D343T, S339N/K341S, S339N/K341T, D343N/G345S, D343N/G345T, R392N/E394S, R392N / E394T, L390N/R392S, L390N/R392T, K389N/M391S, K389N/M391T, S393N/P395S, S393N/P395T, E394N/R396S, E394N/R396T, P395N/P397S, P395N/P397T, R396N/G398S, R396N/G398T, P397N/V399S, P397N/V399T, G398N/L400S, G398N/L400T, V399N/L401S, V399N/L401T, L400N/R402S, L400N/R402T, L401N/A403S, L401N/A403T, R402N/P404S, R402N/P404T, A403N/F405S, A403N/F405T, P404N/P406S и P404N/P406T.

45. Модифицированный полипептид FVII по пп.1-44, где немодифицированный полипептид FVII имеет последовательность аминокислот, приведенную в SEQ ID NO: 3, или представляет собой аллельный или видовой вариант полипептида, приведенного в SEQ ID NO: 3.

46. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-45, который представляет собой зрелый полипептид.

47. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-46, который представляет собой одноцепочечный полипептид или двухцепочечный полипептид.

48. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-47, который включает пост-трансляционные модификации.

49. Модифицированный полипептид FVII по п.48, в котором пост-трансляционные модификации включают гликозилирование.

50. Модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-49, который является двухцепочечным активированным полипептидом FVIIa.

51. Молекула нуклеиновой кислоты, включающая последовательность нуклеотидов, кодирующую

модифицированный полипептид FVII по любому из пп.1-50.

52. Вектор, содержащий молекулу нуклеиновой кислоты по п.51.

53. Клетка, включающая вектор по п.52.

54. Фармацевтическая композиция, включающая терапевтически эффективную концентрацию или количество модифицированного полипептида FVII по любому из пп.1-50 в фармацевтически приемлемом носителе.

55. Фармацевтическая композиция, включающая молекулу нуклеиновой кислоты по п.51 в фармацевтически приемлемом носителе.

56. Фармацевтическая композиция, включающая вектор по п.52 в фармацевтически приемлемом носителе.

57. Фармацевтическая композиция, включающая клетку по п.53 в фармацевтически приемлемом носителе.

58. Фармацевтическая композиция по любому из пп.54-57, разработанная для введения одной дозой.

59. Фармацевтическая композиция по любому из пп.54-58, разработанная для введения способом, выбранным из перорального, назального, легочного, буккального, трансдермального, подкожного, интрадуоденального, энтерального, парентерального, внутривенного или внутримышечного способов введения.

60. Фармацевтическая композиция по любому из пп.54-59, являющаяся лиофилизированной.

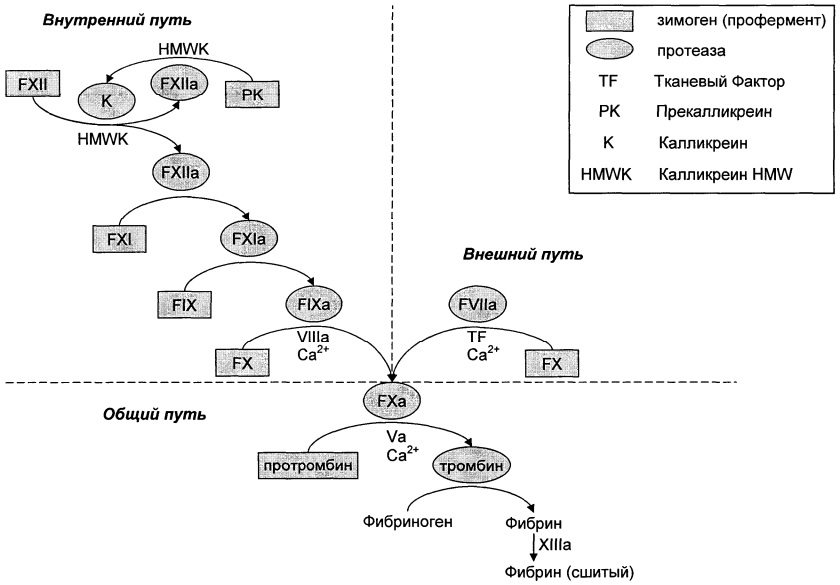
61. Способ лечения субъекта, включающий введение субъекту фармацевтической композиции по любому из пп.54-60, где

субъект страдает от заболевания или состояния, которое поддается лечению введением FVII или прокоагулянта, и

заболевание или состояние, подвергающееся лечению, выбрано из нарушений свертывания крови, гематологических нарушений, геморрагических нарушений, гемофилий, дефицита фактора VII, нарушений, связанных с кровотечениями, хирургического кровотечения или кровотечения в результате травмы.

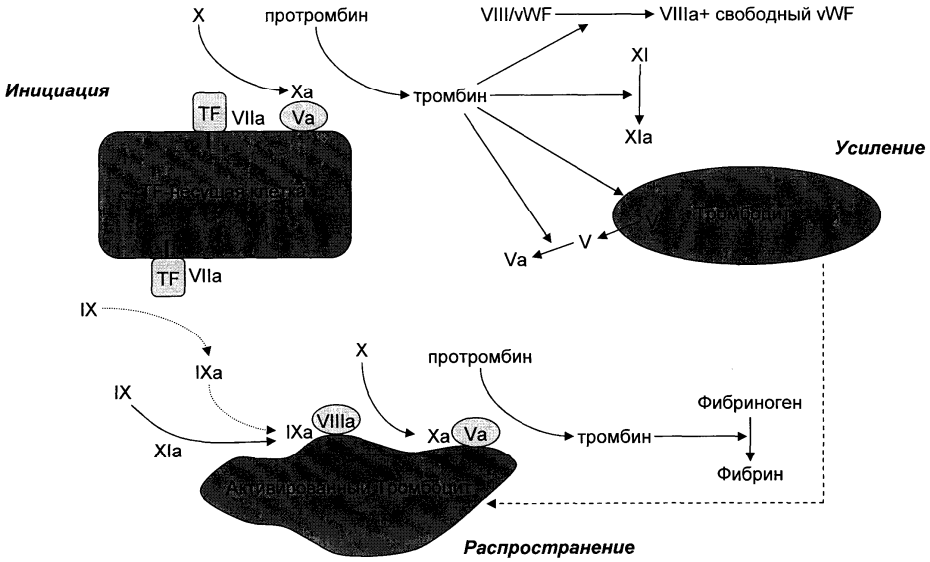
62. Применение модифицированного полипептида FVII по любому из пп.1-50, для лечения заболевания или состояния, выбранного из нарушений свертывания крови, гематологических нарушений, геморрагических нарушений, гемофилий, дефицита фактора VII, нарушений, связанных с кровотечениями, хирургического кровотечения или кровотечения в результате травмы.

63. Применение по п.62, где заболевание или состояние является гемофилией, причем гемофилия представляет собой гемофилию А, или гемофилию В, или гемофилию С.

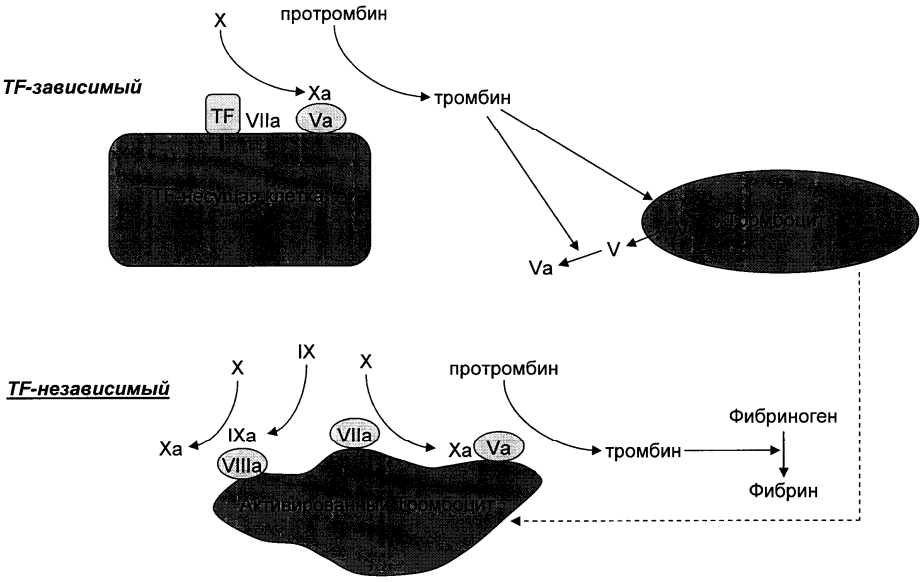


Фиг. 1

Каскад коагуляции



Фиг. 2
Клеточная модель коагуляции



Фиг. 3
TF-зависимая и TF-независимая инициация FVII-зависимого образования тромбина

Перечень последовательностей

<110> Каталист Биосайенсиз, Инк.
Эдвин МЭДИСОН
Кристофер ТСЭНОС

<120> МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ ФАКТОРА VII
И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

<130> 3800003.00101 (4919PC)

<140> Неизвестно
<141> подано в данной заявке

<150> 61/124,021
<151> 2008-04-11

<160> 371

<170> FastSEQ для Windows версии 4.0

<210> 1
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Изоформа предшественника фактора VII A

<400> 1
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
1 5 10 15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
20 25 30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
35 40 45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
50 55 60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65 70 75 80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
85 90 95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
100 105 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
115 120 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
130 135 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145 150 155 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
165 170 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
180 185 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
195 200 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
210 215 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225 230 235 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
245 250 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
260 265 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
275 280 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
290 295 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305 310 315 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
325 330 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
340 345 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
355 360 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
370 375 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385 390 395 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
405 410 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
420 425 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
435 440 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
450 455 460
Phe Pro
465

<210> 2
<211> 444
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Изоформа предшественника фактора VII B

<400> 2
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
1 5 10 15
Gly Cys Leu Ala Ala Val Phe Val Thr Gln Glu Glu Ala His Gly Val
20 25 30
Leu His Arg Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro
35 40 45
Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu
50 55 60
Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile
65 70 75 80
Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly
85 90 95
Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro
100 105 110
Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile
115 120 125
Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr
130 135 140
Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala
145 150 155 160

```
Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile
                165                 170                 175
Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val
            180                 185                 190
Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu
        195                 200                 205
Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile
    210                 215                 220
Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg
225                 230                 235                 240
Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly
                245                 250                 255
Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr
            260                 265                 270
Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln
        275                 280                 285
Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg
    290                 295                 300
Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser
305                 310                 315                 320
Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met
                325                 330                 335
Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser
            340                 345                 350
Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala
        355                 360                 365
Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val
385                 390                 395                 400
Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr
                405                 410                 415
Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu
            420                 425                 430
Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
        435                 440


<210> 3
<211> 406
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Зрелый фактор VII A

<400> 3
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1                5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110


 Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
         115                 120                 125
 Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
     130                 135                 140
 Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
 145                 150                 155                 160
 Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                 165                 170                 175
 Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
             180                 185                 190
 His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
         195                 200                 205
 Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
     210                 215                 220
 Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
 225                 230                 235                 240
 His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                 245                 250                 255
 His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
             260                 265                 270
 Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
         275                 280                 285
 Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
     290                 295                 300
 Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
 305                 310                 315                 320
 Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                 325                 330                 335
 Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
             340                 345                 350
 Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
         355                 360                 365
 Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
     370                 375                 380
 Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
 385                 390                 395                 400
 Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                 405


 <210> 4
 <211> 447
 <212> белок
 <213> Bos taurus

 <220>
 <223> Предшественник фактора VII

 <400> 4
 Met Leu Ser Gln Ala Trp Ala Leu Ala Leu Leu Cys Phe Leu Leu Ser
  1               5                  10                  15
 Leu Trp Gly Ser Leu Pro Ala Val Phe Leu Pro Gln Glu Gln Ala Leu
             20                  25                  30
 Ser Ile Leu His Arg Pro Arg Arg Ala Asn Gly Phe Leu Glu Glu Leu
         35                  40                  45
 Leu Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Arg Glu Glu Leu Cys Ser Phe
     50                  55                  60
 Glu Glu Ala His Glu Ile Phe Arg Asn Glu Glu Arg Thr Arg Gln Phe
 65                  70                  75                  80
 Trp Val Ser Tyr Asn Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln
                 85                  90                  95
```

```
Asn Gly Gly Ser Cys Glu Asp Gln Leu Arg Ser Tyr Ile Cys Phe Cys
            100                 105                 110
Pro Asp Gly Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr Asp Lys Gln Ser Gln
        115                 120                 125
Leu Ile Cys Ala Asn Asp Asn Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Gly Ala
    130                 135                 140
Asp Pro Gly Ala Gly Arg Phe Cys Trp Cys His Glu Gly Tyr Ala Leu
145                 150                 155                 160
Gln Ala Asp Gly Val Ser Cys Ala Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly
                165                 170                 175
Lys Ile Pro Val Leu Glu Lys Arg Asn Gly Ser Lys Pro Gln Gly Arg
            180                 185                 190
Ile Val Gly Gly His Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Ala
        195                 200                 205
Met Leu Lys Leu Asn Gly Ala Leu Leu Cys Gly Gly Thr Leu Val Gly
    210                 215                 220
Pro Ala Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Glu Arg Leu Arg Ser
225                 230                 235                 240
Arg Gly Asn Leu Thr Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Arg Val
                245                 250                 255
Glu Gly Pro Glu Gln Glu Arg Arg Val Ala Gln Ile Ile Val Pro Lys
            260                 265                 270
Gln Tyr Val Pro Gly Gln Thr Asp His Asp Val Ala Leu Leu Gln Leu
        275                 280                 285
Ala Gln Pro Val Ala Leu Gly Asp His Val Ala Pro Leu Cys Leu Pro
    290                 295                 300
Asp Pro Asp Phe Ala Asp Gln Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Ala
305                 310                 315                 320
Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Glu Arg Gly Val Thr Ala Arg Lys
                325                 330                 335
Leu Met Val Val Leu Val Pro Arg Leu Leu Thr Gln Asp Cys Leu Gln
            340                 345                 350
Gln Ser Arg Gln Arg Pro Gly Gly Pro Val Val Thr Asp Asn Met Phe
        355                 360                 365
Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ala Cys Lys Gly Asp Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Pro His Ala Thr Arg Phe Arg Gly Thr Trp Phe Leu Thr Gly
385                 390                 395                 400
Val Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Ala Ala Gly His Phe Gly Ile
                405                 410                 415
Tyr Thr Arg Val Ser Arg Tyr Thr Ala Trp Leu Arg Gln Leu Met Gly
            420                 425                 430
His Pro Pro Ser Arg Gln Gly Phe Phe Gln Val Pro Leu Leu Pro
        435                 440                 445
```

<210> 5
<211> 446
<212> белок
<213> Mus musculus

<220>
<223> Предшественник фактора VII

<400> 5

```
Met Val Pro Gln Ala His Gly Leu Leu Leu Leu Cys Phe Leu Leu Gln
 1               5                  10                  15
Leu Gln Gly Pro Leu Gly Thr Ala Val Phe Ile Thr Gln Glu Glu Ala
            20                  25                  30
His Gly Val Leu His Arg Gln Arg Arg Ala Asn Ser Leu Leu Glu Glu
        35                  40                  45

Leu Trp Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Asn Glu Glu Gln Cys Ser
    50                  55                  60
Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Ser Pro Glu Arg Thr Lys Gln
65                  70                  75                  80
Phe Trp Ile Val Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser Asn Pro Cys
                85                  90                  95
Gln Asn Gly Gly Thr Cys Gln Asp His Leu Lys Ser Tyr Val Cys Phe
            100                 105                 110
Cys Leu Leu Asp Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Lys Ser Lys Asn Glu
        115                 120                 125
Gln Leu Ile Cys Ala Asn Glu Asn Gly Asp Cys Asp Gln Tyr Cys Arg
    130                 135                 140
Asp His Val Gly Thr Lys Arg Thr Cys Ser Cys His Glu Asp Tyr Thr
145                 150                 155                 160
Leu Gln Pro Asp Glu Val Ser Cys Lys Pro Lys Val Glu Tyr Pro Cys
                165                 170                 175
Gly Arg Ile Pro Val Val Glu Lys Arg Asn Ser Ser Ser Arg Gln Gly
            180                 185                 190
Arg Ile Val Gly Gly Asn Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln
        195                 200                 205
Ala Val Leu Lys Ile Asn Gly Leu Leu Leu Cys Gly Ala Val Leu Leu
    210                 215                 220
Asp Ala Arg Trp Ile Val Thr Ala Ala His Cys Phe Asp Asn Ile Arg
225                 230                 235                 240
Tyr Trp Gly Asn Ile Thr Val Val Met Gly Glu His Asp Phe Ser Glu
                245                 250                 255
Lys Asp Gly Asp Glu Gln Val Arg Arg Val Thr Gln Val Ile Met Pro
            260                 265                 270
Asp Lys Tyr Ile Arg Gly Lys Ile Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg
        275                 280                 285
Leu His Arg Pro Val Thr Phe Thr Asp Tyr Val Val Pro Leu Cys Leu
    290                 295                 300
Pro Glu Lys Ser Phe Ser Glu Asn Thr Leu Ala Arg Ile Arg Phe Ser
305                 310                 315                 320
Arg Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu
                325                 330                 335
Glu Leu Met Ser Ile Glu Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu
            340                 345                 350
Glu His Ala Lys His Ser Ser Asn Thr Pro Lys Ile Thr Glu Asn Met
        355                 360                 365
Phe Cys Ala Gly Tyr Met Asp Gly Thr Lys Asp Ala Cys Lys Gly Asp
    370                 375                 380
Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr His Gly Thr Trp Tyr Leu Thr
385                 390                 395                 400
Gly Val Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Ala Ile Gly His Ile Gly
                405                 410                 415
Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Asp Trp Leu Val Arg His Met
            420                 425                 430
Asp Ser Lys Leu Gln Val Gly Val Phe Arg Leu Pro Leu Leu
        435                 440                 445
```

<210> 6
<211> 466
<212> белок
<213> Pan paniscus

<220>
<223> Предшественник фактора VII

<220>

<221> неопределенный
<222> 228, 231
<223> Xaa может быть любой аминокислотой

<400> 6
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
1 5 10 15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Glu Ala Ser Gly Gly Glu Thr
20 25 30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Ile Thr Gln
35 40 45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
50 55 60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65 70 75 80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Leu Glu Arg
85 90 95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
100 105 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
115 120 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr Tyr
130 135 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145 150 155 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
165 170 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
180 185 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Asn Arg Asn Ala Ser Lys
195 200 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
210 215 220
Pro Trp Gln Xaa Leu Leu Xaa Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225 230 235 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Ala Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
245 250 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
260 265 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
275 280 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Ile Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
290 295 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305 310 315 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Ala Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
325 330 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
340 345 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
355 360 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
370 375 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385 390 395 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
405 410 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Ser Val Gly
420 425 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
435 440 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
450 455 460
Phe Pro
465

<210> 7
<211> 466
<212> белок
<213> Pan troglodytes

<220>
<223> Предшественник фактора VII

<220>
<221> неопределенный
<222> 35, 36
<223> Xaa может быть любой аминокислотой

<400> 7
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
1 5 10 15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Glu Ala Ser Gly Gly Glu Thr
20 25 30
Arg Asp Xaa Xaa Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Ile Thr Gln
35 40 45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
50 55 60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65 70 75 80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Leu Glu Arg
85 90 95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
100 105 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
115 120 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr Tyr
130 135 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145 150 155 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
165 170 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
180 185 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
195 200 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
210 215 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225 230 235 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
245 250 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
260 265 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
275 280 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Ile Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
290 295 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305 310 315 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Ala Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val

```
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Ser Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465


<210> 8
<211> 444
<212> белок
<213> Oryctolagus cuniculus

<220>
<223> Предшественник фактора VII

<400> 8
Met Ala Pro Gln Ala Arg Gly Leu Gly Leu Cys Ser Leu Leu Ala Leu
 1               5                  10                  15
Gln Ala Ser Leu Ala Ala Val Phe Ile Thr Gln Glu Glu Ala His Ser
            20                  25                  30
Val Leu Arg Arg Gln Arg Arg Ala Asn Ser Phe Leu Glu Glu Leu Arg
        35                  40                  45
Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu Leu Cys Ser Phe Glu
    50                  55                  60
Glu Ala Arg Glu Val Phe Gln Ser Thr Glu Arg Thr Lys Gln Phe Trp
65                  70                  75                  80
Ile Thr Tyr Asn Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser Asn Pro Cys Gln Asn
                85                  90                  95
Gly Gly Ser Cys Glu Asp Gln Ile Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu
            100                 105                 110
Ala Asp Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Lys Asn Lys Asn Asp Gln Leu
        115                 120                 125
Ile Cys Met Tyr Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His
    130                 135                 140
Val Gly Ser Gln Arg Ser Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Thr Leu Leu
145                 150                 155                 160
Pro Asn Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Asp Tyr Pro Cys Gly Lys
                165                 170                 175
Val Pro Ala Leu Glu Lys Arg Gly Ala Ser Asn Pro Gln Gly Arg Ile
            180                 185                 190
Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Ala Ala
        195                 200                 205
Leu Met Asn Gly Ser Thr Leu Leu Cys Gly Gly Ser Leu Leu Asp Thr
    210                 215                 220
His Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Leu Ser Ser Leu
225                 230                 235                 240


Arg Asn Leu Thr Ile Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Glu
                245                 250                 255
Gly Asp Glu Gln Val Arg His Val Ala Gln Leu Ile Met Pro Asp Lys
            260                 265                 270
Tyr Val Pro Gly Lys Thr Asp His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu Leu
        275                 280                 285
Gln Pro Ala Ala Leu Thr Asn Asn Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu
    290                 295                 300
Arg Asn Phe Ser Glu Ser Thr Leu Ala Thr Ile Arg Phe Ser Arg Val
305                 310                 315                 320
Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Tyr Arg Gly Ala Leu Ala Arg Glu Leu
                325                 330                 335
Met Ala Ile Asp Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Val Glu Gln
            340                 345                 350
Ser Glu His Lys Pro Gly Ser Pro Glu Val Thr Gly Asn Met Phe Cys
        355                 360                 365
Ala Gly Tyr Leu Asp Gly Ser Lys Asp Ala Cys Lys Gly Asp Ser Gly
    370                 375                 380
Gly Pro His Ala Thr Ser Tyr His Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Val
385                 390                 395                 400
Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Ala Val Gly His Val Gly Val Tyr
                405                 410                 415
Thr Arg Val Ser Arg Tyr Thr Glu Trp Leu Ser Arg Leu Met Arg Ser
            420                 425                 430
Lys Leu His His Gly Ile Gln Arg His Pro Phe Pro
        435                 440


<210> 9
<211> 446
<212> белок
<213> Rattus norvegicus

<220>
<223> Предшественник фактора VII

<400> 9
Met Val Pro Gln Thr His Gly Leu Leu Leu Leu Tyr Phe Leu Leu Gln
 1               5                  10                  15
Leu Gln Gly Pro Leu Gly Ala Val Val Phe Ile Thr Gln Glu Glu Ala
            20                  25                  30
His Gly Val Leu His Arg Gln Arg Arg Ala Asn Ser Leu Leu Glu Glu
        35                  40                  45
Leu Trp Ser Ser Ser Leu Glu Arg Glu Cys Asn Glu Glu Arg Cys Ser
    50                  55                  60
Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Ser Pro Glu Arg Thr Lys Gln
65                  70                  75                  80
Phe Trp Thr Ile Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser Asn Pro Cys
                85                  90                  95
Gln Asn Gly Gly Thr Cys Gln Asp His Leu Lys Ser Tyr Val Cys Phe
            100                 105                 110
Cys Pro Leu Asp Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Lys Asn Lys Asn Glu
        115                 120                 125
Gln Leu Ile Cys Ala Asn Glu Asn Gly Asp Cys Asp Gln Tyr Cys Arg
    130                 135                 140
Asp His Val Gly Thr Lys Arg Thr Cys Ser Cys His Glu Asp Tyr Val
145                 150                 155                 160
Leu Gln Pro Asp Glu Val Ser Cys Lys Pro Lys Val Glu Tyr Pro Cys
                165                 170                 175
Gly Arg Ile Pro Val Val Glu Lys Arg Asn Phe Ser Arg Pro Gln Gly
            180                 185                 190
```

```
Arg Ile Val Gly Gly Tyr Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln
        195                 200                 205
Ala Val Leu Lys Phe Asn Glu Ala Leu Leu Cys Gly Ala Val Leu Leu
    210                 215                 220
Asp Thr Arg Trp Ile Val Thr Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Phe Gly
225                 230                 235                 240
Lys Leu Val Asn Ile Thr Val Val Leu Gly Glu His Asp Phe Ser Glu
                245                 250                 255
Lys Glu Gly Thr Glu Gln Val Arg Leu Val Glu Gln Val Ile Met Pro
            260                 265                 270
Asn Lys Tyr Thr Arg Gly Arg Thr Asp His Asp Ile Ala Leu Val Arg
        275                 280                 285
Leu His Arg Pro Val Thr Phe Thr Asp Tyr Val Val Pro Leu Cys Leu
    290                 295                 300
Pro Glu Arg Ala Phe Ser Glu Asn Thr Leu Ala Ser Ile Arg Phe Ser
305                 310                 315                 320
Arg Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu
                325                 330                 335
Glu Leu Met Val Ile Glu Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu
            340                 345                 350
Glu His Ala Lys His Ser Ala Asn Thr Pro Arg Ile Thr Glu Asn Met
        355                 360                 365
Phe Cys Ala Gly Tyr Met Asp Gly Thr Lys Asp Ala Cys Lys Gly Asp
    370                 375                 380
Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr His Gly Thr Trp Tyr Leu Thr
385                 390                 395                 400
Gly Val Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Ala Ile Gly His Ile Gly
                405                 410                 415
Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Asp Trp Leu Val Lys Tyr Met
            420                 425                 430
Asp Ser Lys Leu Arg Val Gly Ile Ser Arg Val Ser Leu Leu
        435                 440                 445


<210> 10
<211> 469
<212> белок
<213> Macaca mulatta

<220>
<223> Предшественник фактора VII

<400> 10
Met Val Ser Arg Ala Leu Gly Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Ala Thr Phe Leu Pro Gln Ala Gly Ser Leu Arg
            20                  25                  30
Pro Gln Glu Glu Lys Thr Gln Asp Leu Leu Trp Lys Pro Gly Pro His
        35                  40                  45
Arg Val Phe Val Thr Gln Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Gln
    50                  55                  60
Arg Arg Ala Asn Ser Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu
65                  70                  75                  80
Arg Glu Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile
                85                  90                  95
Phe Lys Asp Leu Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp
            100                 105                 110
Gly Asp Gln Cys Ala Ser Asn Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys
        115                 120                 125
Asp Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ser Phe Glu Gly
    130                 135                 140

 Arg Asn Tyr Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly
 145                 150                 155                 160
 Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Ala Gly Ala Lys Arg Ser Cys Trp
                165                 170                 175
 Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Met Pro
            180                 185                 190
 Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn
        195                 200                 205
 Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Arg Val Cys Pro Lys
    210                 215                 220
 Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu
 225                 230                 235                 240
 Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His
                245                 250                 255
 Cys Phe Asp Lys Ile Lys Ser Trp Arg Asn Leu Thr Ala Val Leu Gly
            260                 265                 270
 Glu His Asp Leu Ser Glu His Glu Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val
        275                 280                 285
 Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Leu Gly Ala Thr Asn His
    290                 295                 300
 Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu Gln Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His
 305                 310                 315                 320
 Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Met Phe Ser Glu Arg Thr Leu
                325                 330                 335
 Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp
            340                 345                 350
 Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Ala Leu Asn Val Pro Arg Leu
        355                 360                 365
 Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Gln Lys Ala Glu Ala Ser Pro
    370                 375                 380
 Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Arg
 385                 390                 395                 400
 Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr Arg Tyr Arg
                405                 410                 415
 Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala
            420                 425                 430
 Ala Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu
        435                 440                 445
 Trp Leu Gln Lys Leu Met His Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu
    450                 455                 460
 Arg Ala Pro Phe Pro
 465


 <210> 11
 <211> 445
 <212> белок
 <213> Sus scrofa

 <220>
 <223> Предшественник фактора VII (изоформа B)

 <400> 11
 Met Ala Ser Leu Arg Pro Ala Leu Leu Cys Leu Leu Leu Cys Leu Gln
  1               5                  10                  15
 Gly Ser Leu Ala Ala Val Phe Val Gly His Glu Glu Ala His Ser Leu
             20                  25                  30
 Leu His Arg Phe Arg Arg Ala Asn Ser Phe Leu Glu Glu Leu Trp Pro
         35                  40                  45
 Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Arg Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu
     50                  55                  60
```

```
Ala Arg Glu Ile Phe Lys Ser Glu Glu Arg Thr Arg Gln Phe Trp Val
65                  70                  75                  80
Ser Tyr Asn Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser Asn Pro Cys Leu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Ser Cys Glu Asp Gln Leu Gln Ala Tyr Ile Cys Phe Cys Pro Glu
            100                 105                 110
Gly Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr Asn Lys Lys Ser Gln Leu Ile
        115                 120                 125
Cys Met Asn Asp Asn Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Ala
    130                 135                 140
Glu Ala Gly Arg Ser Cys Trp Cys His Glu Gly Tyr Ala Leu Gln Glu
145                 150                 155                 160
Asp Gly Val Ser Cys Glu Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile
                165                 170                 175
Pro Val Leu Glu Lys Arg Asn Asp Ser Asn Pro Gln Gly Arg Ile Val
            180                 185                 190
Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Ala Met Leu
        195                 200                 205
Lys Leu Lys Gly Ala Leu Leu Cys Gly Gly Thr Leu Leu Asn Thr Ser
    210                 215                 220
Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Arg Ile Arg Ser Trp Lys
225                 230                 235                 240
Asp Leu Thr Val Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Lys Asp Glu Gly
                245                 250                 255
Asp Glu Gln Glu Arg Pro Val Ala Gln Val Phe Val Pro Asp Lys Tyr
            260                 265                 270
Val Pro Gly Lys Thr Asp His Asp Leu Ala Leu Val Arg Leu Ala Arg
        275                 280                 285
Pro Val Ala Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg
    290                 295                 300
Ser Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Ile Arg Phe Ser Ala Val Ser
305                 310                 315                 320
Gly Trp Gly Arg Leu Leu Asp Arg Gly Ala Lys Ala Arg Val Leu Met
                325                 330                 335
Ala Ile Gln Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Glu Gln Ala
            340                 345                 350
Arg Arg Arg Pro Gly Ser Pro Ser Ile Thr Asp Asn Met Phe Cys Ala
        355                 360                 365
Gly Tyr Leu Asp Gly Ser Lys Asp Ala Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Pro His Ala Thr Arg Phe Arg Gly Thr Trp Phe Leu Thr Gly Val Val
385                 390                 395                 400
Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Ala Thr Gly Arg Phe Gly Val Tyr Thr
                405                 410                 415
Arg Val Ser Arg Tyr Thr Ala Trp Leu Leu Gly Leu Met Ser Ala Pro
            420                 425                 430
Pro Pro Pro Ser Glu Gly Leu Leu Arg Ala Pro Leu Pro
        435                 440                 445
```

<210> 12
<211> 446
<212> белок
<213> Canis familiaris

<220>
<223> Предшественник фактора VII

<400> 12

```
Met Val Ala Trp Ala Gly Glu Leu Ala Leu Leu Cys Phe Leu Leu Gly
 1               5                  10                  15

Leu Gln Gly Ser Leu Ala Ala Val Phe Leu Thr Gln Glu Glu Ala Gln
            20                  25                  30
Gly Val Leu His Arg Gln Arg Arg Ala Asn Ser Phe Leu Glu Glu Leu
        35                  40                  45
Arg Ala Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Arg Glu Glu Gln Cys Ser Phe
    50                  55                  60
Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Gln Asp Val Asp Arg Thr Arg Gln Phe
65                  70                  75                  80
Trp Ile Ser Tyr Lys Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser Asn Pro Cys Gln
                85                  90                  95
Asn Gly Gly Ser Cys Glu Asp Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys
            100                 105                 110
Pro Asp Asp Phe Gln Gly Arg Asn Cys Glu Thr Asp Lys Lys Asp Gln
        115                 120                 125
Leu Ile Cys Met Asn Glu Asn Gly Gly Cys Gln Gln Tyr Cys Ser Asp
    130                 135                 140
His Ala Glu Ala Arg Arg Ser Cys Trp Cys His Glu Gly Tyr Thr Leu
145                 150                 155                 160
Gln Asp Asp Gly Val Ser Cys Met Pro Ile Val Glu Tyr Pro Cys Gly
                165                 170                 175
Lys Ile Pro Val Leu Glu Lys Arg Ile Gly Ser Asn Pro Gln Gly Arg
            180                 185                 190
Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Ala
        195                 200                 205
Ala Val Lys Val Asp Gly Lys Leu Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asp
    210                 215                 220
Ala Ala Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Glu Arg Ile Lys Asn
225                 230                 235                 240
Trp Lys Asn Leu Thr Val Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu Asp
                245                 250                 255
Asp Gly Asp Glu Gln Glu Arg His Val Ala Arg Val Ile Val Pro Asp
            260                 265                 270
Lys Tyr Ile Pro Leu Lys Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu His Leu
        275                 280                 285
Arg Thr Pro Val Ala Tyr Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro
    290                 295                 300
Glu Lys Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Ile Arg Phe Ser Thr
305                 310                 315                 320
Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Gln
                325                 330                 335
Leu Met Ala Ile Asp Val Pro Arg Val Met Thr Gln Asp Cys Gln Glu
            340                 345                 350
Gln Ser Arg Arg Arg Ser Gly Ser Pro Ala Ile Thr Glu Asn Met Phe
        355                 360                 365
Cys Ala Gly Tyr Leu Asp Gly Ser Lys Asp Ala Cys Gln Gly Asp Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Pro His Ala Thr Lys Phe Gln Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly
385                 390                 395                 400
Val Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys Ala Ala Glu Gly His Phe Gly Val
                405                 410                 415
Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Arg Gln Leu Met Val
            420                 425                 430
Ser Ser His Thr Leu Arg Gly Leu Leu Arg Ala Pro Leu Pro
        435                 440                 445
```

<210> 13
<211> 433
<212> белок
<213> Brachydanio rerio

<220>
<223> Предшественник фактора VII

<400> 13
Met Ser Leu Leu Leu Val Phe Ser Val Leu Trp Ser Leu His Tyr Cys
 1   5   10   15
His Ser Ala Ala Val Phe Val His Arg Asp Glu Ala His Glu Val Leu
            20   25   30
Ile Arg Ser Lys Arg Ala Asn Ser Gly Trp Phe Glu Glu Leu Lys Thr
        35   40   45
Gly Asn Leu Glu Arg Glu Cys Leu Glu Glu Lys Cys Ser Tyr Glu Gly
    50   55   60
Ala Arg Glu Val Phe Glu His Thr Glu Ala Thr Asn Glu Phe Trp Lys
65   70   75   80
Ile Tyr Asp Val Lys Asp His Cys Ala Ser Ser Pro Cys Glu His Asp
                85   90   95
Gly Leu Cys Thr Thr Gln Asn Ala Asp Ser Tyr Met Cys Leu Cys Ala
            100   105   110
Pro Gly Phe Ser Gly Arg His Cys Glu Gln Ser Ile Gly Asp Val Pro
        115   120   125
Asp Ser Cys Leu His Asp Asn Gly Gly Cys Glu His Phe Cys Thr Glu
    130   135   140
Gln Asp Gly Arg Arg Asn Cys Ser Cys Ala Asp Gly Tyr Tyr Leu Asp
145   150   155   160
Asn Gly Gly Gln Lys Cys Arg Ser His Glu Val Phe Pro Cys Gly Lys
                165   170   175
Val Pro Leu Leu Gln Ala Gly Lys Ala Ala Asp His Gln Val Asp Leu
            180   185   190
Arg Ser Arg Ile Val Gly Gly Ser Glu Cys Pro Lys Gly His Cys Pro
        195   200   205
Trp Gln Val Leu Leu Lys Tyr Gly Glu Lys Gly Phe Cys Gly Gly Val
    210   215   220
Ile Tyr Lys Pro Thr Trp Ile Leu Thr Ala Ala His Cys Leu Glu Lys
225   230   235   240
Leu Lys Val Lys Phe Leu Arg Ile Val Ala Gly Glu His Asp Leu Glu
                245   250   255
Val Asp Glu Gly Thr Glu Gln Leu Ile Gln Val Asp Gln Met Phe Thr
            260   265   270
His Pro Ala Tyr Val Ser Glu Thr Ala Asp Ser Asp Ile Ala Leu Leu
        275   280   285
Arg Leu Arg Thr Pro Ile Val Tyr Ser Val Tyr Ala Val Pro Val Cys
    290   295   300
Leu Pro Leu Arg Glu Met Ala Glu Arg Glu Leu Trp Ala Val Ser Lys
305   310   315   320
His Thr Val Ser Gly Trp Gly Lys Arg Ser Glu Asp Gly Pro Thr Ser
                325   330   335
Arg Leu Leu Arg Arg Leu Leu Val Pro Arg Ile Arg Thr Gln Glu Cys
            340   345   350
Val Gln Val Ser Asn Leu Thr Leu Thr Ser Asn Met Phe Cys Ala Gly
        355   360   365
Tyr Ile Glu Gly Arg Gln Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro
    370   375   380
Leu Val Thr Arg Tyr Arg Asp Thr Ala Phe Leu Leu Gly Ile Val Ser
385   390   395   400
Trp Gly Lys Gly Cys Ala Arg Pro Gly Ser Tyr Gly Ile Tyr Thr Arg
                405   410   415
Val Ser Asn Tyr Leu Gln Trp Ile Arg Gln Thr Thr Asn Thr Thr Ile
            420   425   430
His

<210> 14
<211> 441
<212> белок
<213> Fugu rubripes

<220>
<223> Предшественник фактора VII

<400> 14
Met Arg Leu Arg Val Phe Phe Thr Leu Val Phe Thr Phe Thr His Cys
 1   5   10   15
Arg Ala Ala Ser Val Phe Leu Asp Ala Asp Lys Ala His Asp Val Leu
            20   25   30
Val Arg Thr Arg Arg Tyr Asn Ser Gly Trp Leu Glu Glu Leu Gln Lys
        35   40   45
Gly Asp Leu Lys Arg Glu Cys Leu Glu Glu Ile Cys Ser Tyr Glu Glu
    50   55   60
Ala Arg Glu Val Phe Glu His Thr Lys Thr Thr Asp Glu Phe Trp Lys
65   70   75   80
Ile Tyr Asn Arg Pro Asn Ser Cys Lys Ser Asn Pro Cys Leu Asn Gly
                85   90   95
Gly Ser Cys Ser Ala Glu Gly Ser Ser Tyr Thr Cys Phe Cys Leu Pro
            100   105   110
Glu Phe Ser Gly Val Asp Cys Glu Leu Glu Tyr Gln Thr Val Pro Asp
        115   120   125
Thr Cys Leu Leu Glu Asn Gly Gly Cys Glu His Phe Cys His Glu Asn
    130   135   140
Ser Ala Gly Gln Arg Gly Asn Cys Ser Cys Ala Asp Gly Tyr Asp Leu
145   150   155   160
Asp Val Asp Gly Leu Ser Cys Lys Ala Lys Glu Ser Val Ala Cys Gly
                165   170   175
Met Val Leu Ser Ala Gln Phe Glu His Asn Gln Leu Asn Pro Arg Ala
            180   185   190
Arg Ile Val Gly Gly Asn Glu Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln
        195   200   205
Val Leu Leu Val Tyr Lys Gly Lys Gly Phe Cys Gly Gly Val Ile Tyr
    210   215   220
Lys Pro Thr Trp Ile Leu Thr Ala Ser His Cys Met Ala Asp Ile Asp
225   230   235   240
Val Gln Phe Leu Lys Val Val Ala Gly Glu His Asn Thr Glu Val Asp
                245   250   255
Glu Gly Thr Glu Gln Ile Ile Gln Val Ser Glu Ile Ile Met His Glu
            260   265   270
Lys Tyr Val Pro Arg Thr Ala Asp Asn Asp Ile Ala Leu Leu His Leu
        275   280   285
Ala Val Pro Ile Thr Tyr Thr Thr Tyr Ala Ile Pro Val Cys Leu Pro
    290   295   300
Thr Arg Pro Leu Ala Glu Arg Glu Leu Trp Ala Val Ser Leu His Thr
305   310   315   320
Val Ser Gly Trp Gly Arg Arg Ser Glu Asn Gly Pro Thr Ser His Leu
                325   330   335
Leu Arg Gln Leu Lys Val Pro Arg Ile Arg Thr Gln Gln Cys Ile Glu
            340   345   350
Glu Ser Gly Val Val Leu Thr Gln Asn Met Phe Cys Ala Gly Tyr Met
        355   360   365
Glu Gly Arg Gln Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val
    370   375   380
Thr Lys Tyr Lys Lys Thr Val Phe Leu Leu Gly Ile Val Ser Trp Gly
385   390   395   400
Lys Gly Cys Ala Arg Pro Gly Asn Tyr Gly Ile Tyr Thr Arg Val Ala
                405   410   415

```
Asn Tyr Leu Glu Trp Ile His Asn Arg Thr Ala Thr Val Asn Gln Pro
            420                 425                 430
Thr Asn Asn Thr Glu Asn Phe Thr Thr
        435                 440
```

<210> 15
<211> 425
<212> белок
<213> Gallus gallus

<220>
<223> Предшественник фактора VII

<400> 15

```
Met Val Ser Arg Gln Cys Val Ala Leu Leu Leu Cys Phe Pro Leu Leu
 1               5                  10                  15
Val Pro Pro Ser Leu Glu Ala Val Phe Leu Lys Gln Glu Glu Ala Asn
            20                  25                  30
Ser Ile Phe Gln Arg His Arg Arg Ala Asn Ser Phe Phe Glu Glu Ile
        35                  40                  45
Lys Leu Gly Pro Leu Glu Arg Glu Cys Ile Glu Glu Lys Cys Ser Phe
    50                  55                  60
Glu Glu Ala Arg Glu Ile Tyr Arg Asp Asp Glu Arg Thr Lys Glu Phe
65                  70                  75                  80
Trp His Ile Tyr Ser Asp Pro Asn Gln Cys Asp Ser Ser Pro Cys Gln
                85                  90                  95
Asn Gly Gly Ser Cys Asp Asp Gln Phe Gln Asp Tyr Val Cys Arg Cys
            100                 105                 110
Pro Pro Glu Tyr Glu Gly Lys Ser Cys Glu Thr Ala Val Ala Glu Asn
        115                 120                 125
Leu Lys Cys Ile Tyr Asp Asn Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ala Asp
    130                 135                 140
Glu Gln Ser Glu Lys Arg Val Cys Phe Cys Ala Glu Gly Tyr Ala Leu
145                 150                 155                 160
Ala Ser Asp Gly Val Ser Cys Ile Pro Gln Val Lys Tyr Pro Cys Gly
                165                 170                 175
Thr Ile Pro Val Leu Ala Arg Lys Asn Thr Thr Ala Gln Gly Arg Ile
            180                 185                 190
Val Gly Gly Val Thr Cys Pro Pro Gly Glu Cys Pro Trp Gln Ala Leu
        195                 200                 205
Ile Ile Gln Asp Gln Lys Gly Lys Cys Gly Gly Ser Leu Leu Ser Pro
    210                 215                 220
Glu Trp Val Val Thr Ala Ala His Cys Leu Asp Tyr Ala His Ser Lys
225                 230                 235                 240
Gln Leu Arg Val Arg Leu Gly Glu Tyr Ser Val Lys Val Ala Glu Lys
                245                 250                 255
Thr Glu Gln Glu Ser Gly Val Ser Lys Ile Ile Arg His Glu Glu Tyr
            260                 265                 270
Thr Ile Gly Gln Val Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Lys Leu Glu Thr
        275                 280                 285
Pro Val Asn Leu Thr Asp Phe Val Val Pro Ile Cys Leu Pro Glu Lys
    290                 295                 300
Arg Phe Ala Val Tyr Glu Leu Ser Ser Ile Lys Phe Ser Met Val Ser
305                 310                 315                 320
Gly Trp Gly Arg Leu Leu Asp Gly Gly Ala Thr Ser Thr Phe Leu Met
                325                 330                 335
Arg Val His Leu Pro Arg Val Lys Thr Gln Glu Cys Glu Lys Gln Ala
            340                 345                 350
Asn Leu Asn Ile Thr Glu Asn Met Phe Cys Ala Gly Asp Leu Thr Gly
        355                 360                 365

Lys Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr Lys
    370                 375                 380
Tyr Lys Asn Thr Trp Phe Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Lys Gly
385                 390                 395                 400
Cys Ala Val Glu Gly Ser Tyr Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Arg Tyr
                405                 410                 415
Ile Asn Trp Leu Lys Arg His Met Glu
            420                 425
```

<210> 16
<211> 444
<212> белок
<213> Pongo pygmaeus

<220>
<223> Фактор VII (фрагмент)

<400> 16

```
Gly Val Ala Glu Ala Ser Gly Gly Glu Thr Arg Asp Met Gln Trp Lys
 1               5                  10                  15
Leu Gly Pro His Arg Val Phe Ile Thr Gln Glu Glu Ala His Gly Val
            20                  25                  30
Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Thr Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro
        35                  40                  45
Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu
    50                  55                  60
Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Leu Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile
65                  70                  75                  80
Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro
            100                 105                 110
Asp Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Met Tyr Lys Asp Asp Gln Leu Ile
        115                 120                 125
Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Met
    130                 135                 140
Gly Ala Lys Arg Ser Cys Trp Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala
145                 150                 155                 160
Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile
                165                 170                 175
Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val
            180                 185                 190
Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu
        195                 200                 205
Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile
    210                 215                 220
Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg
225                 230                 235                 240
Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu Arg Asp Gly
                245                 250                 255
Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr
            260                 265                 270
Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln
        275                 280                 285
Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg
    290                 295                 300
Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser
305                 310                 315                 320
Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met
                325                 330                 335
```

```
Ala Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser
            340                 345                 350
Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala
        355                 360                 365
Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Pro His Ala Thr Arg Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val
385                 390                 395                 400
Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Ala Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr
                405                 410                 415
Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Cys Ser Glu
            420                 425                 430
Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
        435                 440
```

<210> 17
<211> 221
<212> белок
<213> Gorilla gorilla

<220>
<223> Фактор VII (фрагмент)

<220>
<221> неопределенный
<222> 172, 177
<223> Xaa может быть любой аминокислотой

<400> 17

```
Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp
 1               5                  10                  15
Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp
            20                  25                  30
Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Met
        35                  40                  45
Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His
    50                  55                  60
Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu
65                  70                  75                  80
Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val
                85                  90                  95
Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu
            100                 105                 110
Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln
        115                 120                 125
Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys
    130                 135                 140
Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly
145                 150                 155                 160
Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Xaa Leu Thr Gly Ile
                165                 170                 175
Xaa Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr
            180                 185                 190
Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser
        195                 200                 205
Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
    210                 215                 220
```

<210> 18
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> FVII, вариант L13P

<400> 18

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Pro Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
```

```
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 19
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> вариант FVII (предшественник F64L)

```
<400> 19
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Leu
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335

Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 20
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> вариант FVII (предшественник L73Q)

```
<400> 20
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Gln Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
```

```
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 21
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> FVII вариант (предшественник E79Q)

<400> 21

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

Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 22
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> вариант FVII (предшественник S120P)

<400> 22

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

```
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Pro Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 23
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> вариант FVII (предшественник C121F)

<400> 23

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15

Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Phe Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 24
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> вариант FVII (предшественник L125P)

<400> 24
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1   5   10   15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20   25   30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35   40   45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50   55   60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65   70   75   80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85   90   95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100   105   110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Pro Gln Ser Tyr
        115   120   125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130   135   140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145   150   155   160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165   170   175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180   185   190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195   200   205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210   215   220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225   230   235   240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245   250   255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260   265   270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275   280   285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290   295   300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305   310   315   320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325   330   335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340   345   350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355   360   365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370   375   380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385   390   395   400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405   410   415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420   425   430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435   440   445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450   455   460
Phe Pro
465

<210> 25
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> вариант FVII (предшественник Y128C)

<400> 25
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1   5   10   15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20   25   30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35   40   45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50   55   60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65   70   75   80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85   90   95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100   105   110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Cys
        115   120   125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130   135   140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145   150   155   160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165   170   175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180   185   190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195   200   205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210   215   220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225   230   235   240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245   250   255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260   265   270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275   280   285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290   295   300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305   310   315   320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325   330   335

```
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465


<210> 26
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> вариант FVII (предшественник R139K)

<400> 26
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Lys Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255

    Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
                260                 265                 270
    Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
            275                 280                 285
    Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
        290                 295                 300
    Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
    305                 310                 315                 320
    Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                    325                 330                 335
    Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
                340                 345                 350
    Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
            355                 360                 365
    Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
        370                 375                 380
    Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
    385                 390                 395                 400
    Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                    405                 410                 415
    Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
                420                 425                 430
    His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
            435                 440                 445
    Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
        450                 455                 460
    Phe Pro
    465


    <210> 27
    <211> 466
    <212> белок
    <213> Homo sapiens

    <220>
    <223> вариант FVII (предшественник R139Q)

    <400> 27
    Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
     1               5                  10                  15
    Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
                20                  25                  30
    Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
            35                  40                  45
    Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
        50                  55                  60
    Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
    65                  70                  75                  80
    Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                    85                  90                  95
    Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
                100                 105                 110
    Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
            115                 120                 125
    Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Gln Asn Cys Glu Thr His
        130                 135                 140
    Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
    145                 150                 155                 160
    Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                    165                 170                 175
```

```
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 28
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> вариант FVII R139W

<400> 28

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

Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Trp Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 29
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> вариант FVII (предшественник C151S)

<400> 29

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
```

```
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Ser Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 30
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> вариант FVII (предшественник E154K)

<400> 30

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Lys Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
```

```
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 31
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> вариант FVII (предшественник G157C)

<400> 31

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Cys Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335

     Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
                 340                 345                 350
     Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
             355                 360                 365
     Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
         370                 375                 380
     Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
     385                 390                 395                 400
     Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                     405                 410                 415
     Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
                 420                 425                 430
     His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
             435                 440                 445
     Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
         450                 455                 460
     Phe Pro
     465
```

<210> 32
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник G157S)

<400> 32

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Ser Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
```

```
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465


<210> 33
<211> 466
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник G157V)

<400> 33
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Val Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175

 Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
 Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
 Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
 Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
 Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
 Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
 Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
 Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
 Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
 Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
 Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
 Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
 Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
 Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
 Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
 Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
 His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
 Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
 Phe Pro
 465


 <210> 34
 <211> 466
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> Вариант FVII (предшественник Q160R)

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

```
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Arg
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 35
<211> 466
<212> белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник P194T)

<400> 35

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15

 Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
 Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
 Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
 Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
 Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
 Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
 Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
 Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
 Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
 Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
 Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
 Tyr Thr Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
 Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
 Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
 Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
 Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
 Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
 Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
 Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
 Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
 Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
 Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
 Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
 Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
 Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
 Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
 His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
 Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
 Phe Pro
 465
```

<210> 36
<211> 466
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник C195R)

<400> 36
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1   5   10   15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20   25   30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35   40   45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50   55   60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65   70   75   80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85   90   95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100   105   110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115   120   125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130   135   140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145   150   155   160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165   170   175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180   185   190
Tyr Pro Arg Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195   200   205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210   215   220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225   230   235   240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245   250   255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260   265   270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275   280   285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290   295   300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305   310   315   320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325   330   335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340   345   350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355   360   365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370   375   380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385   390   395   400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405   410   415

Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420   425   430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435   440   445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450   455   460
Phe Pro
465

<210> 37
<211> 466
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник K197E)

<400> 37
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1   5   10   15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20   25   30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35   40   45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50   55   60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65   70   75   80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85   90   95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100   105   110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115   120   125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130   135   140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145   150   155   160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165   170   175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180   185   190
Tyr Pro Cys Gly Glu Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195   200   205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210   215   220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225   230   235   240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245   250   255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260   265   270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275   280   285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290   295   300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305   310   315   320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325   330   335

```
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465


<210> 38
<211> 466
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник R212Q)

<400> 38
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Gln Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255

 Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
 Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
 Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
 Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
 Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
 Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
 Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
 Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
 Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
 Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
 Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
 His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
 Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
 Phe Pro
 465


<210> 39
<211> 466
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник G216D)

<400> 39
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
```

```
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Asp Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 40
<211> 466
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник C238Y)

<400> 40

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

  Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
              100                 105                 110
  Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
          115                 120                 125
  Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
      130                 135                 140
  Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
  145                 150                 155                 160
  Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                  165                 170                 175
  Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
              180                 185                 190
  Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
          195                 200                 205
  Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
      210                 215                 220
  Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Tyr Gly Gly
  225                 230                 235                 240
  Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                  245                 250                 255
  Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
              260                 265                 270
  Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
          275                 280                 285
  Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
      290                 295                 300
  Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
  305                 310                 315                 320
  Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                  325                 330                 335
  Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
              340                 345                 350
  Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
          355                 360                 365
  Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
      370                 375                 380
  Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
  385                 390                 395                 400
  Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                  405                 410                 415
  Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
              420                 425                 430
  His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
          435                 440                 445
  Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
      450                 455                 460
  Phe Pro
  465
```

<210> 41
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник T241N)

<400> 41

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
```

```
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Asn Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 42
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник C254Y)

<400> 42

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Tyr Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
```

```
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 43
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник A266T)

<400> 43

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Thr Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335

Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 44
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник R283W)

<400> 44

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
```

```
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Trp Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 45
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник V295D)

<400> 45

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

 Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
 Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
 Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
 Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
 Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
 Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
 Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
 Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Asp Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
 Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
 Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
 Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
 Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
 Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
 Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
 Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
 Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
 His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
 Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
 Phe Pro
 465
```

<210> 46
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник D302H)

<400> 46

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

```
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His His Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 47
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник D302N)

<400> 47

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15

Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asn Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 48
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник A304T)

<400> 48
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1   5   10   15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20   25   30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35   40   45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50   55   60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65   70   75   80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85   90   95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100   105   110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115   120   125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130   135   140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145   150   155   160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165   170   175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180   185   190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195   200   205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210   215   220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225   230   235   240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245   250   255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260   265   270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275   280   285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Thr
    290   295   300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305   310   315   320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325   330   335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340   345   350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355   360   365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370   375   380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385   390   395   400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405   410   415

Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420   425   430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435   440   445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450   455   460
Phe Pro
465

<210> 49
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник A304V)

<400> 49
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1   5   10   15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20   25   30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35   40   45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50   55   60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65   70   75   80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85   90   95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100   105   110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115   120   125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130   135   140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145   150   155   160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165   170   175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180   185   190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195   200   205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210   215   220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225   230   235   240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245   250   255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260   265   270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275   280   285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Val
    290   295   300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305   310   315   320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325   330   335

```
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465


<210> 50
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник R307C)

<400> 50
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255

 Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
 Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
 Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
 Leu Leu Cys Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
 Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
 Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
 Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
 Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
 Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
 Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
 Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
 His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
 Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
 Phe Pro
 465


 <210> 51
 <211> 466
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> Вариант FVII (предшественник R307H)

 <400> 51
 Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
  1               5                  10                  15
 Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
             20                  25                  30
 Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
         35                  40                  45
 Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
     50                  55                  60
 Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
 65                  70                  75                  80
 Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                 85                  90                  95
 Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
             100                 105                 110
 Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
         115                 120                 125
 Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
     130                 135                 140
 Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
 145                 150                 155                 160
 Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                 165                 170                 175
```

```
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu His Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 52
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник V312M)

<400> 52

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

 Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
 Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
 Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
 Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
 Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
 Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
 Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
 Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
 Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
 Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
 Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
 Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
 Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
 Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Met Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
 Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
 Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
 Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
 Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
 Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
 Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
 Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
 His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
 Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
 Phe Pro
 465
```

<210> 53
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник E325K)

<400> 53

```
 Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
  1               5                  10                  15
```

```
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Lys Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 54
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник T332M)

<400> 54

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Met Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
```

```
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 55
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник V341F)

<400> 55

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335

Arg Phe Ser Leu Phe Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 56
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник A352T)

<400> 56

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
```

```
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Thr
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 57
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник A354V)

<400> 57

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

Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Val Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 58
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник M358I)

<400> 58

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

```
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Ile Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 59
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник M358V)

<400> 59

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15

Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Val Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 60
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник P363R)

<400> 60
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1   5   10   15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20   25   30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35   40   45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50   55   60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65   70   75   80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85   90   95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100   105   110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115   120   125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130   135   140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145   150   155   160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165   170   175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180   185   190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195   200   205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210   215   220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225   230   235   240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245   250   255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260   265   270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275   280   285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290   295   300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305   310   315   320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325   330   335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340   345   350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Arg Arg Leu Met Thr Gln
        355   360   365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370   375   380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385   390   395   400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405   410   415

Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420   425   430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435   440   445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450   455   460
Phe Pro
465

<210> 61
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник R364Q)

<400> 61
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1   5   10   15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20   25   30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35   40   45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50   55   60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65   70   75   80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85   90   95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100   105   110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115   120   125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130   135   140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145   150   155   160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165   170   175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180   185   190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195   200   205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210   215   220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225   230   235   240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245   250   255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260   265   270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275   280   285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290   295   300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305   310   315   320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325   330   335

```
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Gln Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 62
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник T367S)

<400> 62

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255

 Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
 Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
 Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
 Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
 Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
 Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
 Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Ser Gln
        355                 360                 365
 Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
 Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
 Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
 Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
 His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
 Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
 Phe Pro
 465
```

<210> 63
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник C370F)

<400> 63

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

```
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Phe Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 64
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник C389G)

<400> 64

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

Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Gly Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 65
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник G391S)

<400> 65

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
```

```
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Ser Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 66
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник G402E)

<400> 66

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Glu Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
```

```
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465


<210> 67
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник G402R)

<400> 67
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335


  Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
              340                 345                 350
  Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
          355                 360                 365
  Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
      370                 375                 380
  Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
  385                 390                 395                 400
  Lys Arg Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                  405                 410                 415
  Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
              420                 425                 430
  His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
          435                 440                 445
  Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
      450                 455                 460
  Phe Pro
  465


  <210> 68
  <211> 466
  <212> БЕЛОК
  <213> Homo sapiens

  <220>
  <223> Вариант FVII (предшественник D403H)

  <400> 68
  Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
   1               5                  10                  15
  Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
              20                  25                  30
  Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
          35                  40                  45
  Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
      50                  55                  60
  Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
  65                  70                  75                  80
  Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                  85                  90                  95
  Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
              100                 105                 110
  Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
          115                 120                 125
  Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
      130                 135                 140
  Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
  145                 150                 155                 160
  Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                  165                 170                 175
  Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
              180                 185                 190
  Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
          195                 200                 205
  Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
      210                 215                 220
  Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
  225                 230                 235                 240
  Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                  245                 250                 255
```

```
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly His Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 69
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник R413Q)

<400> 69

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

```
   Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
               180                 185                 190
   Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
           195                 200                 205
   Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
       210                 215                 220
   Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
   225                 230                 235                 240
   Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                   245                 250                 255
   Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
               260                 265                 270
   Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
           275                 280                 285
   Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
       290                 295                 300
   Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
   305                 310                 315                 320
   Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                   325                 330                 335
   Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
               340                 345                 350
   Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
           355                 360                 365
   Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
       370                 375                 380
   Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
   385                 390                 395                 400
   Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Gln Gly Thr Trp
                   405                 410                 415
   Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr val Gly
               420                 425                 430
   His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
           435                 440                 445
   Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
       450                 455                 460
   Phe Pro
   465
```

<210> 70
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник T419M)

<400> 70

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

```
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Met Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 71
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник G435E)

<400> 71

```
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15

Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Glu Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465
```

<210> 72
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник E445K)

<400> 72
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1   5   10   15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20   25   30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35   40   45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50   55   60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65   70   75   80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85   90   95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100   105   110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115   120   125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130   135   140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145   150   155   160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165   170   175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180   185   190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195   200   205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210   215   220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225   230   235   240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245   250   255
Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260   265   270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275   280   285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290   295   300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305   310   315   320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325   330   335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340   345   350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355   360   365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370   375   380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385   390   395   400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405   410   415

 Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420   425   430
 His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Lys Trp Leu Gln
        435   440   445
 Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450   455   460
 Phe Pro
 465

 <210> 73
 <211> 466
 <212> БЕЛОК
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <223> Вариант FVII (предшественник R375W)

 <400> 73
 Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
  1   5   10   15
 Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
             20   25   30
 Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
         35   40   45
 Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
     50   55   60
 Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
 65   70   75   80
 Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                 85   90   95
 Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
             100   105   110
 Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
         115   120   125
 Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
     130   135   140
 Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
 145   150   155   160
 Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                 165   170   175
 Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
             180   185   190
 Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
         195   200   205
 Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
     210   215   220
 Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
 225   230   235   240
 Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                 245   250   255
 Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
             260   265   270
 Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
         275   280   285
 Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
     290   295   300
 Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
 305   310   315   320
 Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                 325   330   335

```
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Trp Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465


<210> 74
<211> 466
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант FVII (предшественник R375K)

<400> 74
Met Val Ser Gln Ala Leu Arg Leu Leu Cys Leu Leu Leu Gly Leu Gln
 1               5                  10                  15
Gly Cys Leu Ala Ala Gly Gly Val Ala Lys Ala Ser Gly Gly Glu Thr
            20                  25                  30
Arg Asp Met Pro Trp Lys Pro Gly Pro His Arg Val Phe Val Thr Gln
        35                  40                  45
Glu Glu Ala His Gly Val Leu His Arg Arg Arg Arg Arg Ala Asn Ala Phe
    50                  55                  60
Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu Cys Lys Glu Glu
65                  70                  75                  80
Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys Asp Ala Glu Arg
                85                  90                  95
Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp Gln Cys Ala Ser
            100                 105                 110
Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Leu Gln Ser Tyr
        115                 120                 125
Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn Cys Glu Thr His
    130                 135                 140
Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly Gly Cys Glu Gln
145                 150                 155                 160
Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys Arg Cys His Glu
                165                 170                 175
Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu
            180                 185                 190
Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys
        195                 200                 205
Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys
    210                 215                 220
Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp
                245                 250                 255

Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp
            260                 265                 270
Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val
        275                 280                 285
Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala
    290                 295                 300
Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro
305                 310                 315                 320
Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val
                325                 330                 335
Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala
            340                 345                 350
Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln
        355                 360                 365
Asp Cys Leu Gln Gln Ser Lys Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr
    370                 375                 380
Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys
385                 390                 395                 400
Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp
                405                 410                 415
Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly
            420                 425                 430
His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro
    450                 455                 460
Phe Pro
465


<210> 75
<211> 304
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Предшественник TFPI, изоформа α

<400> 75
Met Ile Tyr Thr Met Lys Lys Val His Ala Leu Trp Ala Ser Val Cys
 1               5                  10                  15
Leu Leu Leu Asn Leu Ala Pro Ala Pro Leu Asn Ala Asp Ser Glu Glu
            20                  25                  30
Asp Glu Glu His Thr Ile Ile Thr Asp Thr Glu Leu Pro Pro Leu Lys
        35                  40                  45
Leu Met His Ser Phe Cys Ala Phe Lys Ala Asp Asp Gly Pro Cys Lys
    50                  55                  60
Ala Ile Met Lys Arg Phe Phe Phe Asn Ile Phe Thr Arg Gln Cys Glu
65                  70                  75                  80
Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Gln Asn Arg Phe Glu Ser
                85                  90                  95
Leu Glu Glu Cys Lys Lys Met Cys Thr Arg Asp Asn Ala Asn Arg Ile
            100                 105                 110
Ile Lys Thr Thr Leu Gln Gln Glu Lys Pro Asp Phe Cys Phe Leu Glu
        115                 120                 125
Glu Asp Pro Gly Ile Cys Arg Gly Tyr Ile Thr Arg Tyr Phe Tyr Asn
    130                 135                 140
Asn Gln Thr Lys Gln Cys Glu Arg Phe Lys Tyr Gly Gly Cys Leu Gly
145                 150                 155                 160
Asn Met Asn Asn Phe Glu Thr Leu Glu Glu Cys Lys Asn Ile Cys Glu
                165                 170                 175
```

```
Asp Gly Pro Asn Gly Phe Gln Val Asp Asn Tyr Gly Thr Gln Leu Asn
            180                 185                 190
Ala Val Asn Asn Ser Leu Thr Pro Gln Ser Thr Lys Val Pro Ser Leu
        195                 200                 205
Phe Glu Phe His Gly Pro Ser Trp Cys Leu Thr Pro Ala Asp Arg Gly
    210                 215                 220
Leu Cys Arg Ala Asn Glu Asn Arg Phe Tyr Tyr Asn Ser Val Ile Gly
225                 230                 235                 240
Lys Cys Arg Pro Phe Lys Tyr Ser Gly Cys Gly Gly Asn Glu Asn Asn
                245                 250                 255
Phe Thr Ser Lys Gln Glu Cys Leu Arg Ala Cys Lys Lys Gly Phe Ile
            260                 265                 270
Gln Arg Ile Ser Lys Gly Gly Leu Ile Lys Thr Lys Arg Lys Arg Lys
        275                 280                 285
Lys Gln Arg Val Lys Ile Ala Tyr Glu Glu Ile Phe Val Lys Asn Met
    290                 295                 300


<210> 76
<211> 276
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Зрелый TFPI, изоформа α

<400> 76
Asp Ser Glu Glu Asp Glu Glu His Thr Ile Ile Thr Asp Thr Glu Leu
 1               5                  10                  15
Pro Pro Leu Lys Leu Met His Ser Phe Cys Ala Phe Lys Ala Asp Asp
            20                  25                  30
Gly Pro Cys Lys Ala Ile Met Lys Arg Phe Phe Phe Asn Ile Phe Thr
        35                  40                  45
Arg Gln Cys Glu Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Gln Asn
    50                  55                  60
Arg Phe Glu Ser Leu Glu Glu Cys Lys Lys Met Cys Thr Arg Asp Asn
65                  70                  75                  80
Ala Asn Arg Ile Ile Lys Thr Thr Leu Gln Gln Glu Lys Pro Asp Phe
                85                  90                  95
Cys Phe Leu Glu Glu Asp Pro Gly Ile Cys Arg Gly Tyr Ile Thr Arg
            100                 105                 110
Tyr Phe Tyr Asn Asn Gln Thr Lys Gln Cys Glu Arg Phe Lys Tyr Gly
        115                 120                 125
Gly Cys Leu Gly Asn Met Asn Asn Phe Glu Thr Leu Glu Glu Cys Lys
    130                 135                 140
Asn Ile Cys Glu Asp Gly Pro Asn Gly Phe Gln Val Asp Asn Tyr Gly
145                 150                 155                 160
Thr Gln Leu Asn Ala Val Asn Asn Ser Leu Thr Pro Gln Ser Thr Lys
                165                 170                 175
Val Pro Ser Leu Phe Glu Phe His Gly Pro Ser Trp Cys Leu Thr Pro
            180                 185                 190
Ala Asp Arg Gly Leu Cys Arg Ala Asn Glu Asn Arg Phe Tyr Tyr Asn
        195                 200                 205
Ser Val Ile Gly Lys Cys Arg Pro Phe Lys Tyr Ser Gly Cys Gly Gly
    210                 215                 220
Asn Glu Asn Asn Phe Thr Ser Lys Gln Glu Cys Leu Arg Ala Cys Lys
225                 230                 235                 240
Lys Gly Phe Ile Gln Arg Ile Ser Lys Gly Gly Leu Ile Lys Thr Lys
                245                 250                 255
Arg Lys Arg Lys Lys Gln Arg Val Lys Ile Ala Tyr Glu Glu Ile Phe
            260                 265                 270

Val Lys Asn Met
        275


<210> 77
<211> 251
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Предшественник TFPI, изоформа β

<400> 77
Met Ile Tyr Thr Met Lys Lys Val His Ala Leu Trp Ala Ser Val Cys
 1               5                  10                  15
Leu Leu Leu Asn Leu Ala Pro Ala Pro Leu Asn Ala Asp Ser Glu Glu
            20                  25                  30
Asp Glu Glu His Thr Ile Ile Thr Asp Thr Glu Leu Pro Pro Leu Lys
        35                  40                  45
Leu Met His Ser Phe Cys Ala Phe Lys Ala Asp Asp Gly Pro Cys Lys
    50                  55                  60
Ala Ile Met Lys Arg Phe Phe Phe Asn Ile Phe Thr Arg Gln Cys Glu
65                  70                  75                  80
Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Gln Asn Arg Phe Glu Ser
                85                  90                  95
Leu Glu Glu Cys Lys Lys Met Cys Thr Arg Asp Asn Ala Asn Arg Ile
            100                 105                 110
Ile Lys Thr Thr Leu Gln Gln Glu Lys Pro Asp Phe Cys Phe Leu Glu
        115                 120                 125
Glu Asp Pro Gly Ile Cys Arg Gly Tyr Ile Thr Arg Tyr Phe Tyr Asn
    130                 135                 140
Asn Gln Thr Lys Gln Cys Glu Arg Phe Lys Tyr Gly Gly Cys Leu Gly
145                 150                 155                 160
Asn Met Asn Asn Phe Glu Thr Leu Glu Glu Cys Lys Asn Ile Cys Glu
                165                 170                 175
Asp Gly Pro Asn Gly Phe Gln Val Asp Asn Tyr Gly Thr Gln Leu Asn
            180                 185                 190
Ala Val Asn Asn Ser Leu Thr Pro Gln Ser Thr Lys Val Pro Ser Leu
        195                 200                 205
Phe Val Thr Lys Glu Gly Thr Asn Asp Gly Trp Lys Asn Ala Ala His
    210                 215                 220
Ile Tyr Gln Val Phe Leu Asn Ala Phe Cys Ile His Ala Ser Met Phe
225                 230                 235                 240
Phe Leu Gly Leu Asp Ser Ile Ser Cys Leu Cys
                245                 250


<210> 78
<211> 222
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Зрелый TFPI, изоформа β


<400> 78
Ser Glu Glu Asp Glu Glu His Thr Ile Ile Thr Asp Thr Glu Leu Pro
 1               5                  10                  15
Pro Leu Lys Leu Met His Ser Phe Cys Ala Phe Lys Ala Asp Asp Gly
            20                  25                  30
```

```
Pro Cys Lys Ala Ile Met Lys Arg Phe Phe Phe Asn Ile Phe Thr Arg
        35                  40                  45
Gln Cys Glu Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Gln Asn Arg
    50                  55                  60
Phe Glu Ser Leu Glu Glu Cys Lys Lys Met Cys Thr Arg Asp Asn Ala
65                  70                  75                  80
Asn Arg Ile Ile Lys Thr Thr Leu Gln Gln Glu Lys Pro Asp Phe Cys
                85                  90                  95
Phe Leu Glu Glu Asp Pro Gly Ile Cys Arg Gly Tyr Ile Thr Arg Tyr
            100                 105                 110
Phe Tyr Asn Asn Gln Thr Lys Gln Cys Glu Arg Phe Lys Tyr Gly Gly
        115                 120                 125
Cys Leu Gly Asn Met Asn Asn Phe Glu Thr Leu Glu Glu Cys Lys Asn
    130                 135                 140
Ile Cys Glu Asp Gly Pro Asn Gly Phe Gln Val Asp Asn Tyr Gly Thr
145                 150                 155                 160
Gln Leu Asn Ala Val Asn Asn Ser Leu Thr Pro Gln Ser Thr Lys Val
                165                 170                 175
Pro Ser Leu Phe Val Thr Lys Glu Gly Thr Asn Asp Gly Trp Lys Asn
            180                 185                 190
Ala Ala His Ile Tyr Gln Val Phe Leu Asn Ala Phe Cys Ile His Ala
        195                 200                 205
Ser Met Phe Phe Leu Gly Leu Asp Ser Ile Ser Cys Leu Cys
    210                 215                 220
```

<210> 79
<211> 213
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Зрелый TFPI-2

<400> 79

```
Asp Ala Ala Gln Glu Pro Thr Gly Asn Asn Ala Glu Ile Cys Leu Leu
 1               5                  10                  15
Pro Leu Asp Tyr Gly Pro Cys Arg Ala Leu Leu Leu Arg Tyr Tyr Tyr
            20                  25                  30
Asp Arg Tyr Thr Gln Ser Cys Arg Gln Phe Leu Tyr Gly Gly Cys Glu
        35                  40                  45
Gly Asn Ala Asn Asn Phe Tyr Thr Trp Glu Ala Cys Asp Asp Ala Cys
    50                  55                  60
Trp Arg Ile Glu Lys Val Pro Lys Val Cys Arg Leu Gln Val Ser Val
65                  70                  75                  80
Asp Asp Gln Cys Glu Gly Ser Thr Glu Lys Tyr Phe Phe Asn Leu Ser
                85                  90                  95
Ser Met Thr Cys Glu Lys Phe Phe Ser Gly Gly Cys His Arg Asn Arg
            100                 105                 110
Ile Glu Asn Arg Phe Pro Asp Glu Ala Thr Cys Met Gly Phe Cys Ala
        115                 120                 125
Pro Lys Lys Ile Pro Ser Phe Cys Tyr Ser Pro Lys Asp Glu Gly Leu
    130                 135                 140
Cys Ser Ala Asn Val Thr Arg Tyr Tyr Phe Asn Pro Arg Tyr Arg Thr
145                 150                 155                 160
Cys Asp Ala Phe Thr Tyr Thr Gly Cys Gly Gly Asn Asp Asn Asn Phe
                165                 170                 175
Val Ser Arg Glu Asp Cys Lys Arg Ala Cys Ala Lys Ala Leu Lys Lys
            180                 185                 190
Lys Lys Lys Met Pro Lys Leu Arg Phe Ala Ser Arg Ile Arg Lys Ile
        195                 200                 205

Arg Lys Lys Gln Phe
    210
```

<210> 80
<211> 245
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Зрелый химотрипсиноген B

<400> 80

```
Cys Gly Val Pro Ala Ile His Pro Val Leu Ser Gly Leu Ser Arg Ile
 1               5                  10                  15
Val Asn Gly Glu Asp Ala Val Pro Gly Ser Trp Pro Trp Gln Val Ser
            20                  25                  30
Leu Gln Asp Lys Thr Gly Phe His Phe Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser
        35                  40                  45
Glu Asp Trp Val Val Thr Ala Ala His Cys Gly Val Arg Thr Ser Asp
    50                  55                  60
Val Val Val Ala Gly Glu Phe Asp Gln Gly Ser Asp Glu Glu Asn Ile
65                  70                  75                  80
Gln Val Leu Lys Ile Ala Lys Val Phe Lys Asn Pro Lys Phe Ser Ile
                85                  90                  95
Leu Thr Val Asn Asn Asp Ile Thr Leu Leu Lys Leu Ala Thr Pro Ala
            100                 105                 110
Arg Phe Ser Gln Thr Val Ser Ala Val Cys Leu Pro Ser Ala Asp Asp
        115                 120                 125
Asp Phe Pro Ala Gly Thr Leu Cys Ala Thr Thr Gly Trp Gly Lys Thr
    130                 135                 140
Lys Tyr Asn Ala Asn Lys Thr Pro Asp Lys Leu Gln Gln Ala Ala Leu
145                 150                 155                 160
Pro Leu Leu Ser Asn Ala Glu Cys Lys Lys Ser Trp Gly Arg Arg Ile
                165                 170                 175
Thr Asp Val Met Ile Cys Ala Gly Ala Ser Gly Val Ser Ser Cys Met
            180                 185                 190
Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys Gln Lys Asp Gly Ala Trp Thr
        195                 200                 205
Leu Val Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Asp Thr Cys Ser Thr Ser Ser
    210                 215                 220
Pro Gly Val Tyr Ala Arg Val Thr Lys Leu Ile Pro Trp Val Gln Lys
225                 230                 235                 240
Ile Leu Ala Ala Asn
                245
```

<210> 81
<211> 3141
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант 1 транскрипта FVII

<400> 81

```
agtcccatgg ggaatgtcaa caggcagggg cagcactgca gagatttcat catggtctcc 60
caggccctca ggctcctctg ccttctgctt gggcttcagg gctgcctggc tgcaggcggg 120
gtcgctaagg cctcaggagg agaaacacgg gacatgccgt ggaagccggg gcctcacaga 180
gtcttcgtaa cccaggagga agcccacggc gtcctgcacc ggcgccgggcg cgccaacgcg 240
ttcctggagg agctgcggcc gggctccctg gagagggagt gcaaggagga gcagtgctcc 300
```

ttcgaggagg cccgggagat cttcaaggac gcggagagga cgaagctgtt ctggatttct 360
tacagtgatg gggaccagtg tgcctcaagt ccatgccaga atgggggctc ctgcaaggac 420
cagctccagt cctatatctg cttctgcctc cctgccttcg agggccggaa ctgtgagacg 480
cacaaggatg accagctgat ctgtgtgaac gagaacggcg gctgtgagca gtactgcagt 540
gaccacacgg gcaccaagcg ctcctgtcgg tgccacgagg ggtactctct gctggcagac 600
ggggtgtcct gcacacccac agttgaatat ccatgtggaa aaatacctat tctagaaaaa 660
agaaatgcca gcaaacccca aggccgaatt gtgggggca aggtgtgccc caaaggggag 720
tgtccatggc aggtcctgtt gttggtgaat ggagctcagt tgtgtggggg gaccctgatc 780
aacaccatct gggtggtctc cgcggcccac tgtttcgaca aaatcaagaa ctggaggaac 840
ctgatcgcgg tgctgggcga gcacgacctc agcgagcacg acggggatga gcagagccgg 900
cgggtggcgc aggtcatcat ccccagcacg tacgtcccgg gcaccaccaa ccacgacatc 960
gcgctgctcc gcctgcacca gcccgtggtc ctcactgacc atgtggtgcc cctctgcctg 1020
cccgaacgga cgttctctga gaggacgctg gccttcgtgc gcttctcatt ggtcagcggc 1080
tggggccagc tgctggaccg tggcgccacg gccctggagc tcatggtcct caacgtgccc 1140
cggctgatga cccaggactg cctgcagcag tcacggaagg tgggagactc cccaaatatc 1200
acggagtaca tgttctgtgc cggctactcg gatggcagca aggactcctg caaggggcac 1260
agtggaggcc cacatgccac ccactaccgg ggcacgtggt acctgacggg catcgtcagc 1320
tggggccagg gctgcgcaac cgtgggccac tttggggtgt acaccagggt ctcccagtac 1380
atcgagtggc tgcaaaagct catgcgctca gagccacgcc caggagtcct cctgcgagcc 1440
ccatttccct agcccagcag ccctggcctg tggagagaaa gccaaggctg cgtcgaactg 1500
tcctggcacc aaatcccata tattcttctg cagttaatgg ggtagaggag ggcatgggag 1560
ggagggagag gtggggaggg agacagagac agaaacagag agagacagag acagagagag 1620
actgagggag agactctgag gacatggaga gagactcaaa gagactccaa gattcaaaga 1680
gactaataga gacacagaga tggaatagaa aagatgagag gcagaggcag acaggcgctg 1740
gacagagggg caggggagtg ccaaggttgt cctggaggca gacagcccag ctgagcctcc 1800
ttacctccct tcagccaagc ccacctgcac gtgatctgct ggcctcaggc tgctgctctg 1860
ccttcattgc tggagacagt agaggcatga acacacatgg atgcacacac acacacgcca 1920
atgcacacac acagagatat gcacacacac ggatgcacac acagatggtc acacagagat 1980
acgcaaacac accgatgcac acgcacatag agatatgcac acacagatgc acacacagat 2040
atacacatgg atgcacgcac atgccaatgc acgcacacat cagtgcacac ggatgcacag 2100
agatatgcac acaccgatgt acgcacacac agatatgcac acacatggat gagcacacac 2160
acaccaatgc gcacacacac cgatgtacac acacagatgc acacacagat gcacacacac 2220
cgatgctgac tccatgtgtg ctgtcctctg aaggcggttg tttagctctc acttttctgg 2280
ttcttatcca ttatcatctt cacttcagac aattcagaag catcaccatg catggtggcg 2340
aatgccccca aactctcccc caaatgtatt tctcccttcg ctgggtgccg ggctgcacag 2400
actattcccc acctgcttcc cagcttcaca ataaacggct gcgtctcctc cgcacacctg 2460
tggtgcctgc cacccactgg gttgcccatg attcattttt ggagcccccg gtgctcatcc 2520
tctgagatgc tcttttcttt cacaattttc aacatcactg aaatgaaccc tcacatggaa 2580
gctatttttt aaaaacaaaa gctgtttgat agatgtttga ggctgtagct cccaggatcc 2640
tgtggaattg gatgttctct ccctgccaca gcccttgtca atgatatttc acagagaccc 2700
tgggagcacc tgctcaagag tcagggacac acgcatcact aaatgcaagt tcccagccc 2760
tggctgcagt gggaggacct ggcaagctgc actcttgctg agtccccagg gtggtggaag 2820
aagaatgaga aacacatgaa cagagaaatg gggaggtgac aaacagtgcc cccactcaga 2880
ctccggcaag cacggctcag agagtggact cgatgccatc cctgcagggc cgtcctgggc 2940
accactggca ctcacagcag caaggtgggc accattggca ctcacagcag caaggcaggc 3000
accagcaacc cacctcgggg gcactcaggc atcatctact tcagagcaga cagggtctat 3060
gaactacagc cgtgggctgc ttccaaggca ccctgctctt gtaaataaag ttttatggga 3120
acacaaaaaa aaaaaaaaaa a 3141

<210> 82
<211> 3075
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант 2 транскрипта FVII

<400> 82
agtcccatgg ggaatgtcaa caggcagggg cagcactgca gagatttcat catggtctcc 60
caggccctca ggctcctctg ccttctgctt gggcttcagg gctgcctggc tgcagtcttc 120
gtaacccagg aggaagccca cggcgtcctg cacccggcgcc ggcgcgccaa cgcgttcctg 180

gaggagctgc ggccgggctc cctggagagg gagtgcaagg aggagcagtg ctccttcgag 240
gaggcccggg agatcttcaa ggacgcggag aggacgaagc tgttctggat ttcttacagt 300
gatggggacc agtgtgcctc aagtccatgc cagaatgggg gctcctgcaa ggaccagctc 360
cagtcctata tctgcttctg cctccctgcc ttcgagggcc ggaactgtga gacgcacaag 420
gatgaccagc tgatctgtgt gaacgagaac ggcggctgtg agcagtactg cagtgaccac 480
acgggcacca agcgctcctg tcggtgccac gaggggtact ctctgctggc agacgggggtg 540
tcctgcacac ccacagttga atatccatgt ggaaaaatac ctattctaga aaaaagaaat 600
gccagcaaac cccaaggccg aattgtgggg ggcaaggtgt gccccaaagg ggagtgtcca 660
tggcaggtcc tgttgttggt gaatggagct cagttgtgtg gggggaccct gatcaacacc 720
atctgggtgg tctccgcggc ccactgtttc gacaaaatca agaactggag gaacctgatc 780
gcggtgctgg gcgagcacga cctcagcgag cacgacgggg atgagcagag ccggcgggtg 840
gcgcaggtca tcatccccag cacgtacgtc ccgggcacca ccaaccacga catcgcgctg 900
ctccgcctgc accagccccgt ggtcctcact gaccatgtgg tgcccctctg cctgcccgaa 960
cggacgttct ctgagaggac gctggccttc gtgcgcttct cattggtcag cggctggggc 1020
cagctgctgg accgtggcgc cacggccctg gagctcatgg tcctcaacgt gccccggctg 1080
atgacccagg actgcctgca gcagtcacgg aaggtgggag actccccaaa tatcacggag 1140
tacatgttct gtgccggcta ctcggatggc agcaaggact cctgcaaggg ggacagtgga 1200
ggccccacatg ccacccacta ccggggcacg tggtacctga cgggcatcgt cagctggggc 1260
cagggctgcg caaccgtggg ccactttggg gtgtacacca gggtctccca gtacatcgag 1320
tggctgcaaa agctcatgcg ctcagagcca cgcccaggag tcctcctgcg agccccattt 1380
ccctagccca gcagccctgg cctgtggaga gaaagccaag gctgcgtcga actgtcctgg 1440
caccaaatcc catatattct tctgcagtta atggggtaga ggagggcatg ggagggaggg 1500
agaggtgggg agggagacag agacagaaac agagagagac agagacagag agagactgag 1560
ggagagactc tgaggacatg gagagagact caaagagact ccaagattca aagagactaa 1620
tagagacaca gagatggaat agaaaagatg agaggcagag gcagacaggc gctggacaga 1680
ggggcagggg agtgccaagg ttgtcctgga ggcagacagc ccagctgagc ctccttacct 1740
cccttcagcc aagcccacct gcacgtgatc tgctggcctc aggctgctgc tctgccttca 1800
ttgctggaga cagtagaggc atgaacacac atggatgcac acacacacac gccaatgcac 1860
acacacagag atatgcacac acacggatgc acacacagat ggtcacacag agatacgcaa 1920
acacaccgat gcacacgcac atagagatat gcacacacag atgcacacac agatatacac 1980
atggatgcac gcacatgcca atgcacgcac acatcagtgc acacggatgc acagagatat 2040
gcacacaccg atgtgcgcac acacagatat gcacacacat ggatgagcac acacacacca 2100
atgcgcacac acaccgatgt acacacacag atgcacacac agatgcacac acaccgatgc 2160
tgactccatg tgtgctgtcc tctgaaggcg gttgtttagc tctcactttt ctggttctta 2220
tccattatca tcttcacttc agacaattca gaagcatcac catgcatggt ggcgaatgcc 2280
cccaaactct cccccaaatg tatttctccc ttcgctgggt gccgggctgc acagactatt 2340
ccccacctgc ttcccagctt cacaataaac ggctgcgtct cctccgcaca cctgtggtgc 2400
ctgccaccca ctgggttgcc catgattcat ttttggagcc cccggtgctc atcctctgag 2460
atgctctttt ctttcacaat tttcaacatc actgaaatga accctcacat ggaagctatt 2520
ttttaaaaac aaaagctgtt tgatagatgt ttgaggctgt agctcccagg atcctgtgga 2580
attggatgtt ctctccctgc cacagccctt gtcaatgata tttcacagag accctgggag 2640
cacctgctca agagtcaggg acacacgcat cactaaatgc aagttcccag gccctggctg 2700
cagtgggagg acctggcaag ctgcactctt gctgagtccc cagggtggtg gaagaagaat 2760
gagaaacaca tgaacagaga aatggggagg tgacaaacag tgcccccact cagactccgg 2820
caagcacggc tcagagagtg gactcgatgc catccctgca gggccgtcct gggcaccact 2880
ggcactcaca gcagcaaggt gggcaccatt ggcactcaca gcagcaaggc aggcaccagc 2940
aacccacctc gggggcactc aggcatcatc tacttcagag cagacagggt ctatgaacta 3000
cagccgtggg ctgcttccaa ggcaccctgc tcttgtaaat aaagttttat gggaacacaa 3060
aaaaaaaaaa aaaaa 3075

<210> 83
<211> 46
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Gla домен фактора IX

<400> 83
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15

Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
20 25 30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Val
35 40 45

<210> 84
<211> 45
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Gla домен фактора X

<400> 84
Ala Asn Ser Phe Leu Glu Glu Met Lys Lys Gly His Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Met Glu Glu Thr Cys Ser Tyr Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe Glu
20 25 30
Asp Ser Asp Lys Thr Asn Glu Phe Trp Asn Lys Tyr Lys
35 40 45

<210> 85
<211> 46
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> домен Gla протромбина/тромбина

<400> 85
Ala Asn Thr Phe Leu Glu Glu Val Arg Lys Gly Asn Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Val Glu Glu Thr Cys Ser Tyr Glu Glu Ala Phe Glu Ala Leu Glu
20 25 30
Ser Ser Thr Ala Thr Asp Val Phe Trp Ala Lys Tyr Thr Ala
35 40 45

<210> 86
<211> 46
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> домен Gla белка C

<400> 86
Ala Asn Ser Phe Leu Glu Glu Leu Arg His Ser Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Ile Glu Glu Ile Cys Asp Phe Glu Glu Ala Lys Glu Ile Phe Gln
20 25 30
Asn Val Asp Asp Thr Leu Ala Phe Trp Ser Lys His Val Asp
35 40 45

<210> 87
<211> 46
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> домен Gla белка S

<400> 87
Ala Asn Ser Leu Leu Glu Glu Thr Lys Gln Gly Asn Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Ile Glu Glu Leu Cys Asn Lys Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe Glu
20 25 30
Asn Asp Pro Glu Thr Asp Tyr Phe Tyr Pro Lys Tyr Leu Val
35 40 45

<210> 88
<211> 47
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Gla домен белка остеокальцина (костный Gla белок)

<400> 88
Tyr Leu Tyr Gln Trp Leu Gly Ala Pro Val Pro Tyr Pro Asp Pro Leu
1 5 10 15
Glu Pro Arg Arg Glu Val Cys Glu Leu Asn Pro Asp Cys Asp Glu Leu
20 25 30
Ala Asp His Ile Gly Phe Gln Glu Ala Tyr Arg Arg Phe Tyr Gly
35 40 45

<210> 89
<211> 47
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Gla домен матриксного Gla белка

<400> 89
Arg Ala Lys Val Gln Glu Arg Ile Arg Glu Arg Ser Lys Pro Val His
1 5 10 15
Glu Leu Asn Arg Glu Ala Cys Asp Asp Tyr Arg Leu Cys Glu Arg Tyr
20 25 30
Ala Met Val Tyr Gly Tyr Asn Ala Ala Tyr Asn Arg Tyr Phe Arg
35 40 45

<210> 90
<211> 42
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Gla домен growth-arrest-specific белка 6

<400> 90
Phe Glu Glu Ala Lys Gln Gly His Leu Glu Arg Glu Cys Val Glu Glu
1 5 10 15
Leu Cys Ser Arg Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe Glu Asn Asp Pro Glu
20 25 30
Thr Asp Tyr Phe Tyr Pro Arg Tyr Leu Asp
35 40

<210> 91
<211> 46
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Gla домен белка Z

<400> 91
Ala Gly Ser Tyr Leu Leu Glu Glu Leu Phe Glu Gly Asn Leu Glu Lys
 1   5   10   15
Glu Cys Tyr Glu Glu Ile Cys Val Tyr Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Glu Val Val Thr Asp Glu Phe Trp Arg Arg Tyr Lys
        35   40   45

<210> 92
<211> 45
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Gla домен фактора VII

<400> 92
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser
        35   40   45

<210> 93
<211> 40
<212> БЕЛОК
<213> Notechis scutatus scutatus

<220>
<223> Gla домен протеазы подобной фактору Xa коагуляции яда
      (Venom coagulation factor Xa-like protease)

<220>
<221> неопределенный
<222> 38, 39
<223> Xaa может быть любой аминокислотой

<400> 93
Ser Asn Ser Leu Phe Glu Glu Ile Arg Pro Gly Asn Ile Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Ile Glu Glu Lys Cys Ser Lys Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe Glu
            20   25   30
Asp Asn Glu Lys Thr Xaa Xaa Phe
        35   40

<210> 94
<211> 46
<212> БЕЛОК
<213> Tropidechis carinatus

<220>
<223> Gla домен протеазы подобной фактору Xa коагуляции яда

<400> 94
Ser Asn Ser Leu Phe Glu Glu Ile Arg Pro Gly Asn Ile Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Ile Glu Glu Lys Cys Ser Lys Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe Glu
            20   25   30
Asp Asn Glu Lys Thr Glu Thr Phe Trp Asn Val Tyr Val Asp
        35   40   45

<210> 95
<211> 464
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Предшественник антитромбина III

<400> 95
Met Tyr Ser Asn Val Ile Gly Thr Val Thr Ser Gly Lys Arg Lys Val
 1   5   10   15
Tyr Leu Leu Ser Leu Leu Leu Ile Gly Phe Trp Asp Cys Val Thr Cys
            20   25   30
His Gly Ser Pro Val Asp Ile Cys Thr Ala Lys Pro Arg Asp Ile Pro
        35   40   45
Met Asn Pro Met Cys Ile Tyr Arg Ser Pro Glu Lys Lys Ala Thr Glu
    50   55   60
Asp Glu Gly Ser Glu Gln Lys Ile Pro Glu Ala Thr Asn Arg Arg Val
65   70   75   80
Trp Glu Leu Ser Lys Ala Asn Ser Arg Phe Ala Thr Thr Phe Tyr Gln
                85   90   95
His Leu Ala Asp Ser Lys Asn Asp Asn Asp Asn Ile Phe Leu Ser Pro
            100   105   110
Leu Ser Ile Ser Thr Ala Phe Ala Met Thr Lys Leu Gly Ala Cys Asn
        115   120   125
Asp Thr Leu Gln Gln Leu Met Glu Val Phe Lys Phe Asp Thr Ile Ser
    130   135   140
Glu Lys Thr Ser Asp Gln Ile His Phe Phe Phe Ala Lys Leu Asn Cys
145   150   155   160
Arg Leu Tyr Arg Lys Ala Asn Lys Ser Ser Lys Leu Val Ser Ala Asn
                165   170   175
Arg Leu Phe Gly Asp Lys Ser Leu Thr Phe Asn Glu Thr Tyr Gln Asp
            180   185   190
Ile Ser Glu Leu Val Tyr Gly Ala Lys Leu Gln Pro Leu Asp Phe Lys
        195   200   205
Glu Asn Ala Glu Gln Ser Arg Ala Ala Ile Asn Lys Trp Val Ser Asn
    210   215   220
Lys Thr Glu Gly Arg Ile Thr Asp Val Ile Pro Ser Glu Ala Ile Asn
225   230   235   240
Glu Leu Thr Val Leu Val Leu Val Asn Thr Ile Tyr Phe Lys Gly Leu
                245   250   255
Trp Lys Ser Lys Phe Ser Pro Glu Asn Thr Arg Lys Glu Leu Phe Tyr
            260   265   270
Lys Ala Asp Gly Glu Ser Cys Ser Ala Ser Met Met Tyr Gln Glu Gly
        275   280   285
Lys Phe Arg Tyr Arg Arg Val Ala Glu Gly Thr Gln Val Leu Glu Leu
    290   295   300
Pro Phe Lys Gly Asp Asp Ile Thr Met Val Leu Ile Leu Pro Lys Pro
305   310   315   320

```
Glu Lys Ser Leu Ala Lys Val Glu Lys Glu Leu Thr Pro Glu Val Leu
            325                 330                 335
Gln Glu Trp Leu Asp Glu Leu Glu Glu Met Met Leu Val Val His Met
        340                 345                 350
Pro Arg Phe Arg Ile Glu Asp Gly Phe Ser Leu Lys Glu Gln Leu Gln
    355                 360                 365
Asp Met Gly Leu Val Asp Leu Phe Ser Pro Glu Lys Ser Lys Leu Pro
370                 375                 380
Gly Ile Val Ala Glu Gly Arg Asp Asp Leu Tyr Val Ser Asp Ala Phe
385                 390                 395                 400
His Lys Ala Phe Leu Glu Val Asn Glu Glu Gly Ser Glu Ala Ala Ala
            405                 410                 415
Ser Thr Ala Val Val Ile Ala Gly Arg Ser Leu Asn Pro Asn Arg Val
        420                 425                 430
Thr Phe Lys Ala Asn Arg Pro Phe Leu Val Phe Ile Arg Glu Val Pro
    435                 440                 445
Leu Asn Thr Ile Ile Phe Met Gly Arg Val Ala Asn Pro Cys Val Lys
450                 455                 460


<210> 96
<211> 432
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Зрелый антитромбин III

<400> 96
His Gly Ser Pro Val Asp Ile Cys Thr Ala Lys Pro Arg Asp Ile Pro
 1               5                  10                  15
Met Asn Pro Met Cys Ile Tyr Arg Ser Pro Glu Lys Lys Ala Thr Glu
            20                  25                  30
Asp Glu Gly Ser Glu Gln Lys Ile Pro Glu Ala Thr Asn Arg Arg Val
        35                  40                  45
Trp Glu Leu Ser Lys Ala Asn Ser Arg Phe Ala Thr Thr Phe Tyr Gln
    50                  55                  60
His Leu Ala Asp Ser Lys Asn Asp Asn Asp Asn Ile Phe Leu Ser Pro
65                  70                  75                  80
Leu Ser Ile Ser Thr Ala Phe Ala Met Thr Lys Leu Gly Ala Cys Asn
                85                  90                  95
Asp Thr Leu Gln Gln Leu Met Glu Val Phe Lys Phe Asp Thr Ile Ser
            100                 105                 110
Glu Lys Thr Ser Asp Gln Ile His Phe Phe Phe Ala Lys Leu Asn Cys
        115                 120                 125
Arg Leu Tyr Arg Lys Ala Asn Lys Ser Ser Lys Leu Val Ser Ala Asn
    130                 135                 140
Arg Leu Phe Gly Asp Lys Ser Leu Thr Phe Asn Glu Thr Tyr Gln Asp
145                 150                 155                 160
Ile Ser Glu Leu Val Tyr Gly Ala Lys Leu Gln Pro Leu Asp Phe Lys
                165                 170                 175
Glu Asn Ala Glu Gln Ser Arg Ala Ala Ile Asn Lys Trp Val Ser Asn
            180                 185                 190
Lys Thr Glu Gly Arg Ile Thr Asp Val Ile Pro Ser Glu Ala Ile Asn
        195                 200                 205
Glu Leu Thr Val Leu Val Leu Val Asn Thr Ile Tyr Phe Lys Gly Leu
    210                 215                 220
Trp Lys Ser Lys Phe Ser Pro Glu Asn Thr Arg Lys Glu Leu Phe Tyr
225                 230                 235                 240
Lys Ala Asp Gly Glu Ser Cys Ser Ala Ser Met Met Tyr Gln Glu Gly
                245                 250                 255

Lys Phe Arg Tyr Arg Arg Val Ala Glu Gly Thr Gln Val Leu Glu Leu
            260                 265                 270
Pro Phe Lys Gly Asp Asp Ile Thr Met Val Leu Ile Leu Pro Lys Pro
        275                 280                 285
Glu Lys Ser Leu Ala Lys Val Glu Lys Glu Leu Thr Pro Glu Val Leu
    290                 295                 300
Gln Glu Trp Leu Asp Glu Leu Glu Glu Met Met Leu Val Val His Met
305                 310                 315                 320
Pro Arg Phe Arg Ile Glu Asp Gly Phe Ser Leu Lys Glu Gln Leu Gln
                325                 330                 335
Asp Met Gly Leu Val Asp Leu Phe Ser Pro Glu Lys Ser Lys Leu Pro
            340                 345                 350
Gly Ile Val Ala Glu Gly Arg Asp Asp Leu Tyr Val Ser Asp Ala Phe
        355                 360                 365
His Lys Ala Phe Leu Glu Val Asn Glu Glu Gly Ser Glu Ala Ala Ala
    370                 375                 380
Ser Thr Ala Val Val Ile Ala Gly Arg Ser Leu Asn Pro Asn Arg Val
385                 390                 395                 400
Thr Phe Lys Ala Asn Arg Pro Phe Leu Val Phe Ile Arg Glu Val Pro
                405                 410                 415
Leu Asn Thr Ile Ile Phe Met Gly Arg Val Ala Asn Pro Cys Val Lys
            420                 425                 430


<210> 97
<211> 263
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Зрелый тканевый фактор

<400> 97
Ser Gly Thr Thr Asn Thr Val Ala Ala Tyr Asn Leu Thr Trp Lys Ser
 1               5                  10                  15
Thr Asn Phe Lys Thr Ile Leu Glu Trp Glu Pro Lys Pro Val Asn Gln
            20                  25                  30
Val Tyr Thr Val Gln Ile Ser Thr Lys Ser Gly Asp Trp Lys Ser Lys
        35                  40                  45
Cys Phe Tyr Thr Thr Asp Thr Glu Cys Asp Leu Thr Asp Glu Ile Val
    50                  55                  60
Lys Asp Val Lys Gln Thr Tyr Leu Ala Arg Val Phe Ser Tyr Pro Ala
65                  70                  75                  80
Gly Asn Val Glu Ser Thr Gly Ser Ala Gly Glu Pro Leu Tyr Glu Asn
                85                  90                  95
Ser Pro Glu Phe Thr Pro Tyr Leu Glu Thr Asn Leu Gly Gln Pro Thr
            100                 105                 110
Ile Gln Ser Phe Glu Gln Val Gly Thr Lys Val Asn Val Thr Val Glu
        115                 120                 125
Asp Glu Arg Thr Leu Val Arg Arg Asn Asn Thr Phe Leu Ser Leu Arg
    130                 135                 140
Asp Val Phe Gly Lys Asp Leu Ile Tyr Thr Leu Tyr Tyr Trp Lys Ser
145                 150                 155                 160
Ser Ser Ser Gly Lys Lys Thr Ala Lys Thr Asn Thr Asn Glu Phe Leu
                165                 170                 175
Ile Asp Val Asp Lys Gly Glu Asn Tyr Cys Phe Ser Val Gln Ala Val
            180                 185                 190
Ile Pro Ser Arg Thr Val Asn Arg Lys Ser Thr Asp Ser Pro Val Glu
        195                 200                 205
Cys Met Gly Gln Glu Lys Gly Glu Phe Arg Glu Ile Phe Tyr Ile Ile
    210                 215                 220
```

```
Gly Ala Val Val Phe Val Val Ile Ile Leu Val Ile Ile Leu Ala Ile
225                 230                 235                 240
Ser Leu His Lys Cys Arg Lys Ala Gly Val Gly Gln Ser Trp Lys Glu
                245                 250                 255
Asn Ser Pro Leu Asn Val Ser
            260
```

<210> 98
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Вариант V21D/E154V/M156Q фактора VIIa

<400> 98

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350

Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 99
<211> 4278
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Вектор экспрессии pCMV

<400> 99

```
atgcattagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc catatatgga 60
gttccgcgtt acataactta cggtaaatgg cccgcctggc tgaccgccca acgacccccg 120
cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga ctttccattg 180
acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc aagtgtatca 240
tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgcct ggcattatgc 300
ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac atctacgtat tagtcatcgc 360
tattaccatg gtgatgcggt tttggcagta catcaatggg cgtggatagc ggtttgactc 420
acggggattt ccaagtctcc accccattga cgtcaatggg agtttgtttt ggcaccaaaa 480
tcaacgggac tttccaaaat gtcgtaacaa ctccgcccca ttgacgcaaa tgggcggtag 540
gcgtgtacgg tgggaggtct atataagcag agctggttta gtgaaccgtc agatccgcta 600
gcgattacgc caagctcgaa attaaccctc actaaaggga acaaaagctg gagctccacc 660
gcggtggcgg ccgctctagc ccgggcggat cccccgggct gcaggaattc gatatcaagc 720
ttatcgatac cgtcgacctc gagggggggc ccggtaccag gtaagtgtac ccaattcgcc 780
ctatagtgag tcgtattaca attcactcga tcgcccttcc caacagttgc gcagcctgaa 840
tggcgaatgg agatccaatt tttaagtgta taatgtgtta aactactgat tctaattgtt 900
tgtgtatttt agattcacag tcccaaggct catttcaggc ccctcagtcc tcacagtctg 960
ttcatgatca taatcagcca taccacattt gtagaggttt tacttgcttt aaaaaacctc 1020
ccacacctcc ccctgaacct gaaacataaa atgaatgcaa ttgttgttgt taacttgttt 1080
attgcagctt ataatggtta caaataaagc aatagcatca caaatttcac aaataaagca 1140
ttttttcac tgcattctag ttgtggtttg tccaaactca tcaatgtatc ttaacgcgta 1200
aattgtaagc gttaatattt tgttaaaatt cgcgttaaat ttttgttaaa tcagctcatt 1260
ttttaaccaa taggccgaaa tcggcaaaat cccttataaa tcaaaagaat agaccgagat 1320
agggttgagt gttgttccag tttggaacaa gagtccacta ttaaagaacg tggactccaa 1380
cgtcaaaggg cgaaaaaccg tctatcaggg cgatggccca ctacgtgaac catcacccta 1440
atcaagtttt ttgggtcga ggtgccgtaa agcactaaat cggaacccta aagggagccc 1500
ccgatttaga gcttgacggg gaaagccggc gaacgtggcg agaaaggaag ggaagaaagc 1560
gaaaggagcg ggcgctagggg cgctggcaag tgtagcggtc acgctgcgcg taaccaccac 1620
acccgccgcg cttaatgcgc cgctacaggg cgcgtcaggt ggcacttttc ggggaaatgt 1680
gcgcggaacc cctatttgtt tatttttcta aatacattca aatatgtatc cgctcatgag 1740
acaataaccc tgataaatgc ttcaataata ttgaaaaagg aagaatcctg aggcggaaag 1800
aaccagctgt ggaatgtgtg tcagttaggg tgtggaaagt ccccaggctc cccagcaggc 1860
agaagtatgc aaagcatgca tctcaattag tcagcaacca ggtgtggaaa gtccccaggc 1920
tccccagcag gcagaagtat gcaaagcatg catctcaatt agtcagcaac catagtcccg 1980
cccctaactc cgcccatccc gcccctaact ccgcccagtt ccgcccattc tccgccccat 2040
ggctgactaa ttttttttat ttatgcagag gccgaggccg cctcggcctc tgagctattc 2100
cagaagtagt gaggaggctt ttttggaggc ctaggctttt gcaaagatcg atcaagagac 2160
aggatgagga tcgtttcgca tgattgaaca agatggattg cacgcaggtt ctccggccgc 2220
ttgggtggag aggctattcg gctatgactg ggcacaacag acaatcggct gctctgatgc 2280
cgccgtgttc cggctgtcag cgcaggggcg cccggttctt tttgtcaaga ccgacctgtc 2340
cggtgccctg aatgaactgc aagacgaggc agcgcggcta tcgtggctgg ccacgacggg 2400
cgttccttgc gcagctgtgc tcgacgttgt cactgaagcg ggaagggact ggctgctatt 2460
gggcgaagtg ccggggcagg atctcctgtc atctcaccct gctcctgccg agaaagtatc 2520
```

catcatggct gatgcaatgc ggcggctgca tacgcttgat ccggctacct gcccattcga 2580
ccaccaagcg aaacatcgca tcgagcgagc acgtactcgg atggaagccg gtcttgtcga 2640
tcaggatgat ctggacgaag aacatcaggg gctcgcgcca gccgaactgt tcgccaggct 2700
caaggcgagc atgcccgacg gcgaggatct cgtcgtgacc catggcgatg cctgcttgcc 2760
gaatatcatg gtggaaaatg gccgcttttc tggattcatc gactgtggcc ggctgggtgt 2820
ggcggaccgc tatcaggaca tagcgttggc tacccgtgat attgctgaag aacttggcgg 2880
cgaatgggct gaccgcttcc tcgtgcttta cggtatcgcc gctcccgatt cgcagcgcat 2940
cgccttctat cgccttcttg acgagttctt ctgagcggga ctctggggtt cgaaatgacc 3000
gaccaagcga cgcccaacct gccatcacga gatttcgatt ccaccgccgc cttctatgaa 3060
aggttgggct tcggaatcgt tttccgggac gccggctgga tgatcctcca gcgcggggat 3120
ctcatgctgg agttcttcgc ccaccctagg gggaggctaa ctgaaacacg gaaggagaca 3180
ataccggaag gaacccgcgc tatgacggca ataaaaagac agaataaaac gcacggtgtt 3240
gggtcgtttg ttcataaacg cggggttcgg tcccagggct ggcactctgt cgataacccca 3300
ccgagacccc attggggcca atacgcccgc gtttcttcct tttccccacc ccacccccca 3360
agttcgggtg aaggcccagg gctcgcagcc aacgtcgggg cggcaggccc tgccatagcc 3420
tcaggttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc atttttaatt taaaaggatc 3480
taggtgaaga tccttttttga taatctcatg accaaaatcc cttaacgtga gttttcgttc 3540
cactgagcgt cagaccccgt agaaaagatc aaaggatctt cttgagatcc ttttttttctg 3600
cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac cagcggtggt ttgtttgccg 3660
gatcaagagc taccaactct ttttccgaag gtaactggct tcagcagagc gcagatacca 3720
aatactgtcc ttctagtgta gccgtagtta ggccaccact tcaagaactc tgtagcaccg 3780
cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg ctgccagtgg cgataagtcg 3840
tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata aggcgcagcg gtcgggctga 3900
acgggggttt cgtgcacaca gcccagcttg gagcgaacga cctacaccga actgagatac 3960
ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag ggagaaaggc ggacaggtat 4020
ccggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg agcttccagg gggaaacgcc 4080
tggtatcttt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac ttgagcgtcg atttttgtga 4140
tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca acgcggcctt tttacggttc 4200
ctggccttttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg cgttatcccc tgattctgtg 4260
gataaccgta ttaccgcc 4278

<210> 100
<211> 45
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Прямой праймер СВО-125 ПЦР фактора VII

<400> 100
gcatcatgac gtgacggatc cgccaccatg gtctcccagg ccctc 45

<210> 101
<211> 45
<212> ДНК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Обратный праймер СВО-126 ПЦР фактора VII

<400> 101
gatcgtacga tacgtgaatt cctagggaaa tggggctcgc aggag 45

<210> 102
<211> 1398
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> FVII кДНК (матрица для ПЦР)

<400> 102
atggtctccc aggccctcag gctcctctgc cttctgcttg ggcttcaggg ctgcctggct 60
gcaggcgggg tcgctaaggc ctcaggagga gaaacacggg acatgccgtg gaagccgggg 120
cctcacagag tcttcgtaac ccaggaggaa gcccacggcg tcctgcaccg gcgccggcgc 180
gccaacgcgt tcctggagga gctgcggccg ggctccctgg agagggagtg caaggaggag 240
cagtgctcct tcgaggaggc ccgggagatc ttcaaggacg cggagaggac gaagctgttc 300
tggatttctt acagtgatgg ggaccagtgt gcctcaagtc catgccagaa tgggggctcc 360
tgcaaggacc agctccagtc ctatatctgc ttctgcctcc ctgccttcga gggccggaac 420
tgtgagacgc acaaggatga ccagctgatc tgtgtgaacg agaacggcgg ctgtgagcag 480
tactgcagtg accacacggg caccaagcgc tcctgtcggt gccacgaggg gtactctctg 540
ctggcagacg gggtgtcctg cacacccaca gttgaatatc catgtggaaa aatacctatt 600
ctagaaaaaa gaaatgccag caaaccccaa ggccgaattg tgggggggcaa ggtgtgcccc 660
aaaggggagt gtccatggca ggtcctgttg ttggtgaatg gagctcagtt gtgtgggggg 720
accctgatca acaccatctg ggtggtctcc gcggcccact gtttcgacaa aatcaagaac 780
tggaggaacc tgatcgcggt gctgggcgag cacgacctca gcgagcacga cggggatgag 840
cagagccggc gggtggcgca ggtcatcatc cccagcacgt acgtcccggg caccaccaac 900
cacgacatcg cgctgctccg cctgcaccag cccgtggtcc tcactgacca tgtggtgccc 960
ctctgcctgc ccgaacggac gttctctgag aggacgctgg ccttcgtgcg cttctcattg 1020
gtcagcggct ggggccagct gctggaccgt ggcgccacgg ccctggagct catggtcctc 1080
aacgtgcccc ggctgatgac ccaggactgc ctgcagcagt cacggaaggt gggagactcc 1140
ccaaatatca cggagtacat gttctgtgcc ggctactcgg atggcagcaa ggactcctgc 1200
aaggggggaca gtggaggccc acatgccacc cactaccggg gcacgtggta cctgacgggc 1260
atcgtcagct ggggccaggg ctgcgcaacc gtgggccact ttggggtgta caccagggtc 1320
tcccagtaca tcgagtggct gcaaaagctc atgcgctcag agccacgccc aggagtcctc 1380
ctgcgagccc catttccc 1398

<210> 103
<211> 20
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> связывающая сывороточный альбумин последовательность

<400> 103
Gln Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1   5   10   15
Glu Asp Asp Phe
            20

<210> 104
<211> 14
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> связывающая сывороточный альбумин последовательность

<400> 104
Ile Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu
 1   5   10

<210> 105
<211> 13
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> связывающая сывороточный альбумин последовательность

<400> 105
Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp
1 5 10

<210> 106
<211> 13
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> связывающая сывороточный альбумин последовательность

<400> 106
Ile Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
1 5 10

<210> 107
<211> 17
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> связывающая сывороточный альбумин последовательность

<400> 107
Gly Gly Gly Ser Ile Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu
1 5 10 15
Trp

<210> 108
<211> 13
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> связывающая сывороточный альбумин последовательность

<400> 108
Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp
1 5 10

<210> 109
<211> 17
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> связывающая сывороточный альбумин последовательность

<400> 109
Gly Gly Gly Ser Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp
1 5 10 15

<210> 110
<211> 10

<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> последовательность, связывающая интегрин тромбоцитов IIb-IIIa

<400> 110
Ser Phe Gly Arg Gly Asp Ile Arg Asn Val
1 5 10

<210> 111
<211> 12
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> последовательность, связывающая интегрин тромбоцитов IIb-IIIa

<400> 111
Cys Ser Phe Gly Arg Gly Asp Ile Arg Asn Val Cys
1 5 10

<210> 112
<211> 16
<212> БЕЛОК
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> последовательность, связывающая интегрин тромбоцитов IIb-IIIa

<400> 112
Gly Gly Gly Ser Cys Ser Phe Gly Arg Gly Asp Ile Arg Asn Val Cys
1 5 10 15

<210> 113
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286N

<400> 113
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110

```
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Asn Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 114
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286E

<400> 114

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

Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Glu Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 115
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286D

<400> 115

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

```
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Asp Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 116
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286S

<400> 116

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

 Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Ser Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 117
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286T

<400> 117

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
```

```
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Thr Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 118
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R

<400> 118

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30

Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 119
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286K

<400> 119

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
```

```
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Lys Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 120
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286A

<400> 120

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Ala Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 121
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286V

<400> 121
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Val Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 122
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286M

<400> 122
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Met Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 123
<211> 406
<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q296L

<400> 123
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Leu Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 124

<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286Y

<400> 124
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Tyr Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 125
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286G

<400> 125
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gly Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 126
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286F

<400> 126
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Phe Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 127
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286I

<400> 127
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Ile Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 128
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286P

<400> 128
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Pro Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 129
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286H

<400> 129
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly His Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 130
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286W

<400> 130
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Trp Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 131
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/ замена на Gla из FIX

<400> 131
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
1 5 10 15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
20 25 30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
35 40 45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
50 55 60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65 70 75 80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
85 90 95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
100 105 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
115 120 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
130 135 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145 150 155 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
165 170 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
180 185 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
195 200 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
210 215 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225 230 235 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
245 250 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
260 265 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
275 280 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
290 295 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305 310 315 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
325 330 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
340 345 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
355 360 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
370 375 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385 390 395 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 132
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/H257A

<400> 132
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 133
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/S222A

<400> 133
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 134
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/S222A/H257A

<400> 134
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 135
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/S222A/ замена на Gla из FIX

<400> 135
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 136
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/H257A/ замена на Gla из FIX

<400> 136
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 137
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/S222A/H257A/замена на Gla из FIX

<400> 137
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 138
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/M298Q

<400> 138
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 139
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/M298Q/K341Q

<400> 139
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 140
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/M298Q/K199E

<400> 140
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Glu Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 141
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/M298Q/ замена на Gla из FIX

<400> 141
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 142
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/Q366V

<400> 142
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 143
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/A292N/A294S/Q366V

<400> 143
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Asn Thr Ser Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 144
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A175S/Q286R/Q366V

<400> 144
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 145
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/Q286R/Q366V

<400> 145
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 146
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H257S/Q286R

<400> 146
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ser Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 147
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H257S/Q286R/Q366V

<400> 147
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
Ser Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 148
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/H257A/Q286R/Q366V

<400> 148
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 149
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/H373A

<400> 149
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Ala Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 150
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/H257A/Q286R/M158Q

<400> 150
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 151
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/K341D

<400> 151
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Asp Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 152
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/Q366D

<400> 152
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 153
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/Q366N

<400> 153
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 154
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/M298Q/Q366D

<400> 154
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 155
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/M298Q/Q366N

<400> 155
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asn Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 156
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/H373F

<400> 156
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 157
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q286R/M298Q/H373F

<400> 157
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 158
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V158D/E296V/M298Q

<400> 158
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 159
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239S

<400> 159
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ser Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 160
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239N

<400> 160
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Asn Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 161
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239Q

<400> 161
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Gln Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 162
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239V

<400> 162
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 163
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239L

<400> 163
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Leu Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 164
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239H

<400> 164
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr His Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 165
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239I

<400> 165
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 166
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> P321K

<400> 166
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Lys Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 167
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> P321E

<400> 167
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Glu Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 168
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> P321Y

<400> 168
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Tyr Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 169
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> P321S

<400> 169
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Ser Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 170
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366D

<400> 170
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 171
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366E

<400> 171
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Glu Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 172
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366N

<400> 172
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asn Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 173
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366T

<400> 173
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 174
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366S

<400> 174
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ser Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 175
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366V

<400> 175
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 176
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366I

<400> 176
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Ile Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 177
<211> 406
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366L

<400> 177
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Leu Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 178
<211> 406
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366M

<400> 178
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Met Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 179
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H373D

<400> 179
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Asp Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 180
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H373E

<400> 180
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Glu Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 181
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H373S

<400> 181
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Ser Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 182
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H373F

<400> 182
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 183
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H373A

<400> 183
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Ala Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 184
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366D/H373E

<400> 184
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asp Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Glu Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 185
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366V/H373V

<400> 185
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Val Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 186
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366V/H373L

<400> 186
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Leu Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 187
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q366V/H373I

<400> 187
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Ile Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 188
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> K161S

<400> 188
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Ser Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 189
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> K161A

<400> 189
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Ala Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 190
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> K161V

<400> 190
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Val Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 191
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H216S

<400> 191
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu Ser Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 192
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H216A

<400> 192
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu Ala Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 193
<211> 406
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H216K

<400> 193
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu Lys Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 194
<211> 406
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H216R

<400> 194
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu Arg Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 195
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A

<400> 195
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 196
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222K

<400> 196
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Lys Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 197
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222V

<400> 197
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Val Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 198
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222N

<400> 198
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Asn Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 199
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222E

<400> 199
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Glu Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 200
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222D

<400> 200
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Asp Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 201
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H257A

<400> 201
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 202
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H257S

<400> 202
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
Ser Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 203
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222K/H257A

<400> 203
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Lys Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 204
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H216A/H257A

<400> 204
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu Ala Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 205
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H216A/S222A

<400> 205
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu Ala Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 206
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S52A

<400> 206
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ala Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 207
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S60A

<400> 207
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ala Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 208
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> E394N/P395A/R396S

<400> 208
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Asn Ala Ser Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 209
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> R202S

<400> 209
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Ser Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 210
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A292N/A294S

<400> 210
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Asn Thr Ser Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 211
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> G318N

<400> 211
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Asn Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 212
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A175S

<400> 212
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Asn Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 213
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> K109N

<400> 213
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Asn Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 214
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A122N/G124S

<400> 214
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 215
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A51N

<400> 215
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Asn Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 216
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T130N/E132S

<400> 216
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Asn Val Ser Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 217
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A122N/G124S/E394N/P395A/R396S

<400> 217
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Asn Ala Ala Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 218
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A122N/G124S/E394N/P395A/R396S/ G318N

<400> 218
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Asn Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Asn Ala Ala Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 219
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S52A/S60A

<400> 219
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ala Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ala Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 220
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S52N/P54S

<400> 220
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Asn Ser Ser Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 221
<211> 406
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S119N/L121S

<400> 221
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Asn Leu Ser Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 222
<211> 406
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A

<400> 222
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
115 120 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 223
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> Q66N/Y68S

<400> 223
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Asn Ser Ser Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 224
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S52N/P54S/A122N/G124S/E394N/P395A/R396S

<400> 224
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Asn Ser Ser Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Asn Ala Ser Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 225
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> K109N/A292N/A294S

<400> 225
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Asn Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Asn Thr Ser Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 226
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> K109N/A175S

<400> 226
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Asn Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 227
<211> 417
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S103S111делеция/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF

<400> 227
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Gln Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro
            100   105   110
Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Asp Phe Cys Arg Cys His Glu Gly
        115   120   125
Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr
    130   135   140
Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro
145   150   155   160
Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro
                165   170   175
Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr
            180   185   190
Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys
        195   200   205
Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu
    210   215   220
Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile
225   230   235   240
Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu
                245   250   255
Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu
            260   265   270
Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg
        275   280   285
Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr
    290   295   300
Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp
305   310   315   320
Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu
                325   330   335
Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys
            340   345   350
Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr
        355   360   365
Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His
    370   375   380
Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys
385   390   395   400
Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405   410   415

<210> 228
<211> 414
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H115S126делеция/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF

<400> 228
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys Gln Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys
        115   120   125
Leu Trp Glu Asp Asp Phe Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly
    130   135   140
Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg
145   150   155   160
Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val
                165   170   175
Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn
            180   185   190
Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn
        195   200   205
Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His
    210   215   220
Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser
225   230   235   240
Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu
                245   250   255
His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro
            260   265   270
Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu
        275   280   285
Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu
    290   295   300
Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln
305   310   315   320
Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe
                325   330   335
Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser
            340   345   350
Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly
        355   360   365
Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val
    370   375   380
Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg
385   390   395   400
Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405   410

<210> 229
<211> 419
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128P134делеция/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF

<400> 229
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Gln
        115   120   125
Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu
    130   135   140
Asp Asp Phe Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser
145   150   155   160
Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu
                165   170   175
Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly
            180   185   190
Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe
        195   200   205
Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His
    210   215   220
Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln
225   230   235   240
Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile
                245   250   255
Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val
            260   265   270
Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe
        275   280   285
Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly
    290   295   300
Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr
305   310   315   320
Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile
                325   330   335
Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser
            340   345   350
Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr
        355   360   365
Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val
    370   375   380
Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu
385   390   395   400
Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala
                405   410   415
Pro Phe Pro

<210> 230
<211> 411
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S103Sllделеция/вставкаIEDICLPRWGCLWE

<400> 230
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ile Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly
            100   105   110
Cys Leu Trp Glu Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp
        115   120   125
Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro
    130   135   140
Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly
145   150   155   160
Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu
                165   170   175
Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp
            180   185   190
Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn
        195   200   205
Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp
    210   215   220
Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val
225   230   235   240
Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro
                245   250   255
Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr
            260   265   270
Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly
        275   280   285
Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val
    290   295   300
Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg
305   310   315   320
Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly
                325   330   335
Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro
            340   345   350
His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser
        355   360   365
Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg
    370   375   380

```
Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro
385                 390                 395                 400
Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405                 410


<210> 231
<211> 408
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H115S126делеция/вставкаIEDICLPRWGCLWE

<400> 231
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys Ile Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu
        115                 120                 125
Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu
    130                 135                 140
Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val
145                 150                 155                 160
Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly
                165                 170                 175
Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser
            180                 185                 190
Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala
        195                 200                 205
Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser
    210                 215                 220
Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr
225                 230                 235                 240
Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu
                245                 250                 255
Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu
            260                 265                 270
Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln
        275                 280                 285
Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val
    290                 295                 300
Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly
305                 310                 315                 320
Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp
                325                 330                 335
Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr
            340                 345                 350
His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln
        355                 360                 365
  Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln
      370                 375                 380
  Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly
  385                 390                 395                 400
  Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                  405


  <210> 232
  <211> 413
  <212> БЕЛОК
  <213> Homo sapiens

  <220>
  <223> 128P134делеция/вставкаIEDICLPRWGCLWE

  <400> 232
  Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
   1               5                  10                  15
  Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
              20                  25                  30
  Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
          35                  40                  45
  Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
      50                  55                  60
  Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
  65                  70                  75                  80
  Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                  85                  90                  95
  Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
              100                 105                 110
  Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Ile
          115                 120                 125
  Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Cys Gly Lys
      130                 135                 140
  Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile
  145                 150                 155                 160
  Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu
                  165                 170                 175
  Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr
              180                 185                 190
  Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp
          195                 200                 205
  Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp
      210                 215                 220
  Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr
  225                 230                 235                 240
  Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His
                  245                 250                 255
  Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu
              260                 265                 270
  Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val
          275                 280                 285
  Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu
      290                 295                 300
  Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln
  305                 310                 315                 320
  Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys
                  325                 330                 335
  Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly
              340                 345                 350
```

```
Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile
        355                 360                 365
Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr
    370                 375                 380
Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser
385                 390                 395                 400
Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405                 410


<210> 233
<211> 410
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S103S111делеция/вставкаDICLPRWGCLWED

<400> 233
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu
            100                 105                 110
Trp Glu Asp Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly
        115                 120                 125
Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile
    130                 135                 140
Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly
145                 150                 155                 160
Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val
                165                 170                 175
Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val
            180                 185                 190
Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu
        195                 200                 205
Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu
    210                 215                 220
Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro
225                 230                 235                 240
Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val
                245                 250                 255
Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe
            260                 265                 270
Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp
        275                 280                 285
Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu
    290                 295                 300
Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys
305                 310                 315                 320
Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr
                325                 330                 335

Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His
            340                 345                 350
Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp
        355                 360                 365
Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val
    370                 375                 380
Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg
385                 390                 395                 400
Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405                 410


<210> 234
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H115S126делеция/вставкаDICLPRWGCLWED

<400> 234
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Cys
        115                 120                 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130                 135                 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145                 150                 155                 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
```

```
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405


<210> 235
<211> 412
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128P134делеция/вставкаDICLPRWGCLWED

<400> 235
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asp
        115                 120                 125
Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Cys Gly Lys Ile
    130                 135                 140
Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val
145                 150                 155                 160
Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu
                165                 170                 175
Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile
            180                 185                 190
Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg
        195                 200                 205
Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly
    210                 215                 220
Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr
225                 230                 235                 240
Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln
                245                 250                 255
Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser
        275                 280                 285
Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met
    290                 295                 300

  Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser
  305                 310                 315                 320
  Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala
                  325                 330                 335
  Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly
              340                 345                 350
  Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val
          355                 360                 365
  Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr
      370                 375                 380
  Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu
  385                 390                 395                 400
  Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                  405                 410


  <210> 236
  <211> 419
  <212> БЕЛОК
  <213> Homo sapiens

  <220>
  <223> P406вставкаIEDICLPRWGCLW

  <400> 236
  Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
   1               5                  10                  15
  Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
              20                  25                  30
  Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
          35                  40                  45
  Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
      50                  55                  60
  Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
  65                  70                  75                  80
  Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                  85                  90                  95
  Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
              100                 105                 110
  Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
          115                 120                 125
  Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
      130                 135                 140
  Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
  145                 150                 155                 160
  Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                  165                 170                 175
  Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
              180                 185                 190
  His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
          195                 200                 205
  Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
      210                 215                 220
  Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
  225                 230                 235                 240
  His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                  245                 250                 255
  His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
              260                 265                 270
  Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
          275                 280                 285
```

```
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro Ile Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly
                405                 410                 415
Cys Leu Trp
```

<210> 237
<211> 423
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> P406вставкаGGGSIEDICLPRWGCLW

```
<400> 237
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro Gly Gly Gly Ser Ile Glu Asp Ile Cys Leu
                405                 410                 415
Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
            420
```

<210> 238
<211> 419
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> P406вставкаDICLPRWGCLWED

```
<400> 238
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
```

```
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu
                405                 410                 415
Trp Glu Asp
```

<210> 239
<211> 423
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> P406вставкаGGGSDICLPRWGCLWED

<400> 239

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

His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro Gly Gly Gly Ser Asp Ile Cys Leu Pro Arg
                405                 410                 415
Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp
            420
```

<210> 240
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S103S111делеция/вставкаSFGRGDIRNV

<400> 240

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

```
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 241
<211> 404
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H115S126делеция/вставкаSFGRGDIRNV

<400> 241

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

    Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly
    145                 150                 155                 160
    Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys
                    165                 170                 175
    Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys
                180                 185                 190
    Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu
            195                 200                 205
    His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala
        210                 215                 220
    Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn His Asp
    225                 230                 235                 240
    Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val
                    245                 250                 255
    Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala
                260                 265                 270
    Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg
            275                 280                 285
    Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met
        290                 295                 300
    Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn
    305                 310                 315                 320
    Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp
                    325                 330                 335
    Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly
                340                 345                 350
    Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr
            355                 360                 365
    Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp
        370                 375                 380
    Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg
    385                 390                 395                 400
    Ala Pro Phe Pro
```

<210> 242
<211> 409
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128P134делеция/вставкаSFGRGDIRNV

<400> 242

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

```
Phe Gly Arg Gly Asp Ile Arg Asn Val Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu
    130                 135                 140
Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys
145                 150                 155                 160
Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn
                165                 170                 175
Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val
            180                 185                 190
Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile
        195                 200                 205
Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln
    210                 215                 220
Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly
225                 230                 235                 240
Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val
                245                 250                 255
Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser
            260                 265                 270
Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly
        275                 280                 285
Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn
    290                 295                 300
Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val
305                 310                 315                 320
Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser
                325                 330                 335
Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala
            340                 345                 350
Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser
    370                 375                 380
Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro
385                 390                 395                 400
Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 243
<211> 418
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> P406вставкаCSFGRGDIRNVC

<400> 243

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

 Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
 Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
 Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
 Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
 Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
 His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
 Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
 Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
 His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
 His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
 Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
 Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
 Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
 Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
 Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
 Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
 Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
 Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
 Leu Arg Ala Pro Phe Pro Cys Ser Phe Gly Arg Gly Asp Ile Arg Asn
                405                 410                 415
 Val Cys
```

<210> 244
<211> 422
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> P406вставкаGGGSCSFGRGDIRNVC

<400> 244

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

Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro Gly Gly Gly Ser Cys Ser Phe Gly Arg Gly
405 410 415
Asp Ile Arg Asn Val Cys
420

<210> 245
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/ замена на Gla из FIX

<400> 245
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
1 5 10 15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
20 25 30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
35 40 45

Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
50 55 60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65 70 75 80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
85 90 95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
100 105 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
115 120 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
130 135 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145 150 155 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
165 170 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
180 185 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
195 200 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
210 215 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225 230 235 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
245 250 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
260 265 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu
275 280 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
290 295 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305 310 315 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
325 330 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
340 345 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
355 360 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
370 375 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385 390 395 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 246
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H257A/ замена на Gla из FIX

<400> 246
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
1 5 10 15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
20 25 30

```
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35                  40                  45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50                  55                  60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65                  70                  75                  80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85                  90                  95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100                 105                 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115                 120                 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130                 135                 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145                 150                 155                 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 247
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/H257A/ замена на Gla из FIX

<400> 247

```
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1               5                  10                  15

  Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20                  25                  30
  Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35                  40                  45
  Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50                  55                  60
  Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
  65                  70                  75                  80
  Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85                  90                  95
  Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100                 105                 110
  Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115                 120                 125
  Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130                 135                 140
  Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
  145                 150                 155                 160
  Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
  Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
  Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
  Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
    210                 215                 220
  Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
  225                 230                 235                 240
  Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
  Asp Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
  Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu
        275                 280                 285
  Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
  Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
  305                 310                 315                 320
  Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
  Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
  Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
  Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
  Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
  385                 390                 395                 400
  Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 248
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/M298Q

<400> 248

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 249
<211> 406
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H257A/M298Q

<400> 249

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 250
<211> 406
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/H257A/M298Q

<400> 250
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 251
<211> 406
<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/A292N/A294S/Q366V

<400> 251
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Asn Thr Ser Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 252
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A175S/S222A/Q366V

<400> 252
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 253
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/Q366V

<400> 253
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 254
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H257S/Q366V

<400> 254
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
Ser Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 255
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/H373A

<400> 255
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Ala Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 256
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V158T/L287T/M298K

<400> 256
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Thr Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Thr Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Lys Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 257
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V21D/L287T/M298K

<400> 257
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Thr Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Lys Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 258
<211> 411
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S103S111делеция/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V

<400> 258
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ile Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly
100 105 110
Cys Leu Trp Glu Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp
115 120 125
Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro
130 135 140
Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly
145 150 155 160
Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu
165 170 175
Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp
180 185 190
Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn
195 200 205
Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp
210 215 220
Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val
225 230 235 240
Pro Val Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro
245 250 255
Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr
260 265 270
Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly
275 280 285
Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val
290 295 300
Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg
305 310 315 320
Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly
325 330 335
Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro
340 345 350
His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser
355 360 365
Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg
370 375 380
Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro
385 390 395 400
Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405 410

<210> 259
<211> 410
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S103S111делеция/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V

<400> 259
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu
100 105 110
Trp Glu Asp Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly
115 120 125
Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile
130 135 140
Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly
145 150 155 160
Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val
165 170 175
Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val
180 185 190
Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu
195 200 205
Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu
210 215 220
Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro
225 230 235 240
Val Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val
245 250 255
Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe
260 265 270
Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp
275 280 285
Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu
290 295 300
Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys
305 310 315 320
Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr
325 330 335
Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His
340 345 350
Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp
355 360 365
Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val
370 375 380
Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg
385 390 395 400
Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405 410

<210> 260
<211> 414
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H115S126делеция/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V

<400> 260
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys Gln Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys
        115   120   125
Leu Trp Glu Asp Asp Phe Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly
    130   135   140
Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg
145   150   155   160
Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val
                165   170   175
Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn
            180   185   190
Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn
        195   200   205
Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His
    210   215   220
Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser
225   230   235   240
Thr Tyr Val Pro Val Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu
                245   250   255
His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro
            260   265   270
Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu
        275   280   285
Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu
    290   295   300
Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln
305   310   315   320
Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe
                325   330   335
Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser
            340   345   350
Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly
        355   360   365
Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val
    370   375   380
Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg
385   390   395   400
Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405   410

<210> 261
<211> 408
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H115S126делеция/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V

<400> 261
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys Ile Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu
        115   120   125
Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu
    130   135   140
Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val
145   150   155   160
Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly
                165   170   175
Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser
            180   185   190
Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala
        195   200   205
Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser
    210   215   220
Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Val Thr
225   230   235   240
Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu
                245   250   255
Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu
            260   265   270
Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln
        275   280   285
Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val
    290   295   300
Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly
305   310   315   320
Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp
                325   330   335
Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr
            340   345   350
His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln
        355   360   365
Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln
    370   375   380
Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly
385   390   395   400
Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 262
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H115S126делеция/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V

<400> 262
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Val Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 263
<211> 419
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128P134делеция/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V

<400> 263
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Gln
        115   120   125
Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu
    130   135   140
Asp Asp Phe Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser
145   150   155   160
Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu
                165   170   175
Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly
            180   185   190
Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe
        195   200   205
Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His
    210   215   220
Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln
225   230   235   240
Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Val Thr Thr Asn His Asp Ile
                245   250   255
Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val
            260   265   270
Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe
        275   280   285
Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly
    290   295   300
Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr
305   310   315   320
Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile
                325   330   335
Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser
            340   345   350
Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr
        355   360   365
Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val
    370   375   380
Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu
385   390   395   400
Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala
                405   410   415

Pro Phe Pro

<210> 264
<211> 413
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128P134делеция/вставкаIEDICLPRWGCLWE/G237V

<400> 264
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Ile
        115   120   125
Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Cys Gly Lys
    130   135   140
Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile
145   150   155   160
Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu
                165   170   175
Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr
            180   185   190
Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp
        195   200   205
Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp
    210   215   220
Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr
225   230   235   240
Tyr Val Pro Val Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His
                245   250   255
Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu
            260   265   270
Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val
        275   280   285
Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu
    290   295   300
Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln
305   310   315   320
Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys
                325   330   335
Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly
            340   345   350
Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile
        355   360   365
Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr
    370   375   380

Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser
385   390   395   400
Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405   410

<210> 265
<211> 417
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S103S111делеция/вставкаQRLMEDICLPRWGCLWEDDF/G237V

<400> 265
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Gln Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro
            100   105   110
Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Asp Phe Cys Arg Cys His Glu Gly
        115   120   125
Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr Pro Thr Val Glu Tyr
    130   135   140
Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro
145   150   155   160
Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro
                165   170   175
Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr
            180   185   190
Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys
        195   200   205
Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu
    210   215   220
Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile
225   230   235   240
Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Val Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu
                245   250   255
Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu
            260   265   270
Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg
        275   280   285
Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr
    290   295   300
Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp
305   310   315   320
Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu
                325   330   335
Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys
            340   345   350
Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr
        355   360   365

```
Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His
    370                 375                 380
Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys
385                 390                 395                 400
Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe
                405                 410                 415
Pro
```

<210> 266
<211> 412
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128P134делеция/вставкаDICLPRWGCLWED/G237V

<400> 266

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asp
        115                 120                 125
Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Cys Gly Lys Ile
    130                 135                 140
Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val
145                 150                 155                 160
Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu
                165                 170                 175
Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile
            180                 185                 190
Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg
        195                 200                 205
Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly
    210                 215                 220
Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr
225                 230                 235                 240
Val Pro Val Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln
                245                 250                 255
Pro Val Val Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser
        275                 280                 285
Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met
    290                 295                 300
Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser
305                 310                 315                 320
Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala
                325                 330                 335
```

```
Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly
            340                 345                 350
Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val
        355                 360                 365
Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr
    370                 375                 380
Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu
385                 390                 395                 400
Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405                 410
```

<210> 267
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S103S111делеция/вставкаSFGRGDIRNV/G237V

<400> 267

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Phe Gly Arg Gly Asp Ile Arg Asn Val
            100                 105                 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115                 120                 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130                 135                 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145                 150                 155                 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Val Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
```

```
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
               325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
           340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
       355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
   370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
               405


<210> 268
<211> 404
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H115S126делеция/вставкаSFGRGDIRNV/G237V

<400> 268
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys Ser Phe Gly Arg Gly Asp Ile Arg Asn Val Cys Thr Pro Thr
        115                 120                 125
Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg Asn Ala
    130                 135                 140
Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro Lys Gly
145                 150                 155                 160
Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln Leu Cys
                165                 170                 175
Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys
            180                 185                 190
Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu Gly Glu
        195                 200                 205
His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg Val Ala
    210                 215                 220
Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Val Thr Thr Asn His Asp
225                 230                 235                 240
Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp His Val
                245                 250                 255
Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr Leu Ala
            260                 265                 270
Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu Asp Arg
        275                 280                 285
Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg Leu Met
    290                 295                 300

Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser Pro Asn
305                 310                 315                 320
Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser Lys Asp
                325                 330                 335
Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr Arg Gly
            340                 345                 350
Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys Ala Thr
        355                 360                 365
Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile Glu Trp
    370                 375                 380
Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu Leu Arg
385                 390                 395                 400
Ala Pro Phe Pro



<210> 269
<211> 409
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128P134делеция/вставкаSFGRGDIRNV/G237V

<400> 269
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Ser
        115                 120                 125
Phe Gly Arg Gly Asp Ile Arg Asn Val Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu
    130                 135                 140
Glu Lys Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys
145                 150                 155                 160
Val Cys Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn
                165                 170                 175
Gly Ala Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val
            180                 185                 190
Ser Ala Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile
        195                 200                 205
Ala Val Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln
    210                 215                 220
Ser Arg Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Val
225                 230                 235                 240
Thr Thr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val
                245                 250                 255
Leu Thr Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser
            260                 265                 270
Glu Arg Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly
        275                 280                 285
```

```
Gln Leu Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn
    290                 295                 300
Val Pro Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val
305                 310                 315                 320
Gly Asp Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser
                325                 330                 335
Asp Gly Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala
            340                 345                 350
Thr His Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser
    370                 375                 380
Gln Tyr Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro
385                 390                 395                 400
Gly Val Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 270
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> M298Q/H373F

```
<400> 270
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270

Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 271
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S119N/L121S/A175S

```
<400> 271
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Asn Leu Ser Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
```

```
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 272
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/A175S

<400> 272

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115                 120                 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240

 His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
 His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
 Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
 Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
 Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
 Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
 Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
 Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
 Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
 Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
 385                 390                 395                 400
 Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 273
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A122N/G124S/A175S

<400> 273

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
```

```
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405


<210> 274
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/E39L/Q286R/M298Q

<400> 274
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1               5                  10                  15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20                  25                  30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Leu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35                  40                  45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50                  55                  60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65                  70                  75                  80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85                  90                  95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100                 105                 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115                 120                 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130                 135                 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145                 150                 155                 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205


Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405


<210> 275
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/K42I/Q286R/M298Q/

<400> 275
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1               5                  10                  15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20                  25                  30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Ile Gln Tyr Ser Asp Gly
        35                  40                  45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50                  55                  60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65                  70                  75                  80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85                  90                  95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100                 105                 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115                 120                 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130                 135                 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145                 150                 155                 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
```

```
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 276
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/Q43S/Q286R/M298Q/

<400> 276
```
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1               5                  10                  15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20                  25                  30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Ser Tyr Ser Asp Gly
        35                  40                  45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50                  55                  60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65                  70                  75                  80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85                  90                  95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100                 105                 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115                 120                 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130                 135                 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145                 150                 155                 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175

Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 277
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/M18K/Q286R/M298Q/

<400> 277
```
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1               5                  10                  15
Glu Cys Lys Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20                  25                  30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35                  40                  45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50                  55                  60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65                  70                  75                  80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85                  90                  95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100                 105                 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115                 120                 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130                 135                 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145                 150                 155                 160
```

```
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 278
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/M18K/E39L/K42I/Q43S/Q286R/M298Q/

<400> 278

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

Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145                 150                 155                 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 279
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/Q286R

<400> 279

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

```
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 280
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/Q286R/M298Q

<400> 280

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

Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115                 120                 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 281
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/Q286R/H373F

<400> 281

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

```
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115                 120                 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 282
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V158D/Q286R/E296V/M298Q

<400> 282

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

 Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                 85                  90                  95
 Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
 Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
 Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
 Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145                 150                 155                 160
 Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
 Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
 His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
 Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
 Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
 His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
 His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
 Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275                 280                 285
 Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
 Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
 Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
 Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
 Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
 Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
 Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
 Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 283
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/V158D/E296V/M298Q

<400> 283

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

```
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115                 120                 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 284
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/S222A

<400> 284

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45

Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115                 120                 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 285
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/T128N/P129A/S222A/Q286R

<400> 285

```
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1               5                  10                  15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20                  25                  30
```

```
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35                  40                  45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50                  55                  60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65                  70                  75                  80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85                  90                  95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100                 105                 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115                 120                 125
Asn Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130                 135                 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145                 150                 155                 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 286
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/T128N/P129A/Q286R/M298Q

<400> 286

```
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1               5                  10                  15

Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20                  25                  30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35                  40                  45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50                  55                  60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65                  70                  75                  80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85                  90                  95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100                 105                 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115                 120                 125
Asn Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130                 135                 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145                 150                 155                 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 287
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/S222A/H257A/Q286R/M298Q

<400> 287

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115                 120                 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 288
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128M/P129A/Q286R/M298Q/H373F

<400> 288

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115                 120                 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 289
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>

<223> S52A/S60A/V158D/E296V/M298Q

<400> 289
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ala Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ala Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 290
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S52A/S60A/Q286R

<400> 290
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ala Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ala Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 291
<211> 406
<212> БЕЛОК

<213> Homo sapiens

<220>
<223> S52A/S60A/S222A

<400> 291
```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ala Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ala Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115                 120                 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 292
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/S52A/S60A/S222A/Q286R

<400> 292
```
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1               5                  10                  15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20                  25                  30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35                  40                  45
Asp Gln Cys Ala Ala Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ala Cys Lys Asp
    50                  55                  60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65                  70                  75                  80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85                  90                  95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100                 105                 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115                 120                 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130                 135                 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145                 150                 155                 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165                 170                 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180                 185                 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195                 200                 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
    210                 215                 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225                 230                 235                 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245                 250                 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260                 265                 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275                 280                 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290                 295                 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305                 310                 315                 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325                 330                 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340                 345                 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355                 360                 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370                 375                 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385                 390                 395                 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```

<210> 293
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 293
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ala Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ala Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
<210> 294
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/S52A/S60A/Q286R/M298Q

<400> 294
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ala Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ala Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 295
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S52A/S60A/S222A/H257A/Q286R/M298Q

<400> 295
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ala Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ala Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 296
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S52A/S60A/Q286R/H373F

<400> 296
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ala Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ala Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 297
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S52A/S60A/ Q286R/M298Q/H373F

<400> 297
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ala Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ala Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 298
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V158D/T239V/E296V/M298Q

<400> 298
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 299
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239V/Q286R

<400> 299
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Val Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
<210> 300
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/T239V

<400> 300
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 301
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/S222A/T239V/Q286R

<400> 301
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
1 5 10 15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
20 25 30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
35 40 45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
50 55 60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65 70 75 80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
85 90 95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
100 105 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
115 120 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
130 135 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145 150 155 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
165 170 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
180 185 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
195 200 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
210 215 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val
225 230 235 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
245 250 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
260 265 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
275 280 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
290 295 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305 310 315 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
325 330 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
340 345 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
355 360 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
370 375 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385 390 395 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 302
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239V/Q286R/M298Q

<400> 302
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 303
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q

<400> 303
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
<210> 304
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/T239V/Q286R/M298Q

<400> 304
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 305
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239V/Q286R/H373F

<400> 305
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 306
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 306
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 307
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V158D/T239I/E296V/M298Q

<400> 307
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 308
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239I/Q286R

<400> 308
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 309
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/T239I

<400> 309
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 310
<211> 407
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/S222A/T239I/Q286R

<400> 310
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 311
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239I/Q286R/M298Q

<400> 311
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 312
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/T239I/H257A/Q286R/M298Q

<400> 312
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 313
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/T239I/Q286R/M298Q

<400> 313
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 314
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239I/Q286R/H373F

<400> 314
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 315
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239I/Q286R/M298Q/H373F

<400> 315
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 316
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/S222A/Q286R/H373F

<400> 316
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 317
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q

<400> 317
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 318
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/S222A/Q286R/M298Q/H373F

<400> 318
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 319
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V158D/E296V/M298Q/H373F

<400> 319
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
<210> 320
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V158D/Q286R/E296V/M298Q/H373F

<400> 320
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 321
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H257A/Q286R/M298Q

<400> 321
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
<210> 322
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H257S/Q286R/M298Q

<400> 322
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
Ser Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 323
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/S222A/H257S/Q286R/

<400> 323
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
1 5 10 15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
20 25 30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
35 40 45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
50 55 60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65 70 75 80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
85 90 95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
100 105 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
115 120 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
130 135 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145 150 155 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
165 170 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
180 185 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
195 200 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
210 215 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225 230 235 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
245 250 255
Asp Ser Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
260 265 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
275 280 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
290 295 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305 310 315 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
325 330 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
340 345 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
355 360 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
370 375 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385 390 395 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 324
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/H257S/Q286R/M298Q

<400> 324
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ser Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 325
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> H257S/Q286R/M298Q/H373F

<400> 325
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ser Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 326
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/Q286R/M298Q/H373F

<400> 326
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 327
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/Q366V

<400> 327
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
1 5 10 15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
20 25 30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
35 40 45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
50 55 60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65 70 75 80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
85 90 95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
100 105 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
115 120 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
130 135 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145 150 155 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
165 170 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
180 185 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
195 200 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
210 215 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225 230 235 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
245 250 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
260 265 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu
275 280 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
290 295 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305 310 315 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
325 330 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
340 345 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly
355 360 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
370 375 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385 390 395 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 328
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> S222A/Q286R/M298Q

<400> 328
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 329
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T28N/P129A/A175S/Q366V

<400> 329
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115   120   125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 330
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A122N/G124S/A175S/Q366V

<400> 330
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Val Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 331
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/A175S/S222A

<400> 331
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
115 120 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 332
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A122N/G124S/A175S/S222A

<400> 332
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 333
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/A175S/Q286

<400> 333
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
115 120 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 334
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A122N/G124S/A175S/Q286R

<400> 334
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 335
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/T128N/P129A/A175S/S222A/Q286R

<400> 335
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
1 5 10 15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
20 25 30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
35 40 45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
50 55 60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65 70 75 80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
85 90 95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
100 105 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
115 120 125
Asn Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
130 135 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145 150 155 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser
165 170 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
180 185 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
195 200 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
210 215 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225 230 235 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
245 250 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
260 265 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
275 280 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
290 295 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305 310 315 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
325 330 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
340 345 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
355 360 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
370 375 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385 390 395 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 336
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> замена на Gla из FIX/A122N/G124S/A175S/S222A/Q286R

<400> 336
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
1 5 10 15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
20 25 30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Ser Asp Gly
35 40 45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
50 55 60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65 70 75 80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
85 90 95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
100 105 110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys
115 120 125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
130 135 140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145 150 155 160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser
165 170 175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
180 185 190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
195 200 205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg
210 215 220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225 230 235 240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
245 250 255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
260 265 270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
275 280 285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro
290 295 300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305 310 315 320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
325 330 335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
340 345 350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
355 360 365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
370 375 380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385 390 395 400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 337
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q

<400> 337
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115   120   125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 338
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q

<400> 338
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 339
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q

<400> 339
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
115 120 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 340
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A122N/G124S/A175S/S222A/H257A/Q286R/M298Q

<400> 340
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 341
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/A175S/Q286R/M298Q/H373F

<400> 341
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115   120   125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 342
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> A122N/G124S/A175S/Q286R/M298Q/H373F

<400> 342
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Asn Asp Ser Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ser Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 343
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> E296V/M298Q

<400> 343
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 344
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V158E

<400> 344
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Glu Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 345
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> E296R/M298K

<400> 345
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Arg Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 346
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> K337A

<400> 346
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Ala Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 347
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V158D/E296V/M298Q/K337A

<400> 347
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Ala Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 348
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V253N

<400> 348
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Asn Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 349
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T106N

<400> 349
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Asn Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 350
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T106N/V253N

<400> 350
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Asn Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Asn Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 351
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> K143N/N145T

<400> 351
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Asn Arg
130 135 140
Thr Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 352
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> R315N/V317T

<400> 352
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Asn Lys Thr Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 353
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> K143N/N145T/R315N/V317T

<400> 353
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Asn Arg
    130   135   140
Thr Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Met Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
<210> 354
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/M298Q

<400> 354
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115   120   125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 355
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> { замена на Gla из FIX /K43I}/T128N/P129A/Q286R/M298Q

<400> 355
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Ile Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Asn Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
<210> 356
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N

<400> 356
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115   120   125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asn Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 357
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> { замена на Gla из FIX /K43I}/Q286R/M298Q/Q366N

<400> 357
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Ile Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Thr Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asn Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 358
<211> 407
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> { замена на Gla из FIX /K43I}/T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N

<400> 358
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
 1   5   10   15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe
            20   25   30
Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Ile Gln Tyr Ser Asp Gly
        35   40   45
Asp Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp
    50   55   60
Gln Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg
65   70   75   80
Asn Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn
                85   90   95
Gly Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser
            100   105   110
Cys Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys
        115   120   125
Asn Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys
    130   135   140
Arg Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys
145   150   155   160
Pro Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala
                165   170   175
Gln Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala
            180   185   190
Ala His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val
        195   200   205
Leu Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg
    210   215   220
Arg Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr
225   230   235   240
Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr
                245   250   255
Asp His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg
            260   265   270
Thr Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu
        275   280   285
Leu Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro
    290   295   300
Arg Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp
305   310   315   320
Ser Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly
                325   330   335
Ser Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His
            340   345   350
Tyr Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asn Gly
        355   360   365
Cys Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr
    370   375   380
Ile Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val
385   390   395   400
Leu Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 359
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/M298Q/H373F

<400> 359
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
115 120 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 360
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> V158D/Q286R/E296V/M298Q

<400> 360
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Asp Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Val Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 361
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> M298Q/Q366N/H373F

<400> 361
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asn Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 362
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239V/M298Q/H373F

<400> 362
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 363
<211> 406
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239I/M298Q/H373F

<400> 363
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
        115   120   125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Gln Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 364
<211> 406
<212> BEJOK
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/Q286R/M298Q/Q366N/H373F

<400> 364
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115   120   125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Thr Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asn Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 365
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239V/Q286R/M298Q/Q366N

<400> 365
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asn Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 366
<211> 406
<212> ВЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T239I/Q286R/M298Q/Q366N

<400> 366
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Thr
115 120 125
Pro Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Asn Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 367
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q

<400> 367
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
115 120 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 368
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/S222A/T239V/H257A/Q286R/M298Q

<400> 368
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
1 5 10 15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
20 25 30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
35 40 45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
50 55 60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65 70 75 80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
85 90 95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
100 105 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
115 120 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
130 135 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145 150 155 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
165 170 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
180 185 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
195 200 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ala Arg Arg
210 215 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225 230 235 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
245 250 255
Ala Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
260 265 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
275 280 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
290 295 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305 310 315 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
325 330 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
340 345 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
355 360 365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
370 375 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385 390 395 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
405

<210> 369
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/T239V/Q286R/M298Q/H373F

<400> 369
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115   120   125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Val Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 370
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q

<400> 370
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1   5   10   15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20   25   30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35   40   45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50   55   60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65   70   75   80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85   90   95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100   105   110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115   120   125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130   135   140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145   150   155   160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165   170   175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180   185   190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195   200   205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210   215   220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225   230   235   240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245   250   255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260   265   270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275   280   285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290   295   300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305   310   315   320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325   330   335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340   345   350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355   360   365
Ala Thr Val Gly His Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370   375   380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385   390   395   400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405

<210> 371
<211> 406
<212> БЕЛОК
<213> Homo sapiens

<220>
<223> T128N/P129A/T239I/Q286R/M298Q/H373F

<400> 371

```
Ala Asn Ala Phe Leu Glu Glu Leu Arg Pro Gly Ser Leu Glu Arg Glu
 1               5                  10                  15
Cys Lys Glu Glu Gln Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Ile Phe Lys
            20                  25                  30
Asp Ala Glu Arg Thr Lys Leu Phe Trp Ile Ser Tyr Ser Asp Gly Asp
        35                  40                  45
Gln Cys Ala Ser Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln
    50                  55                  60
Leu Gln Ser Tyr Ile Cys Phe Cys Leu Pro Ala Phe Glu Gly Arg Asn
65                  70                  75                  80
Cys Glu Thr His Lys Asp Asp Gln Leu Ile Cys Val Asn Glu Asn Gly
                85                  90                  95
Gly Cys Glu Gln Tyr Cys Ser Asp His Thr Gly Thr Lys Arg Ser Cys
            100                 105                 110
Arg Cys His Glu Gly Tyr Ser Leu Leu Ala Asp Gly Val Ser Cys Asn
        115                 120                 125
Ala Thr Val Glu Tyr Pro Cys Gly Lys Ile Pro Ile Leu Glu Lys Arg
    130                 135                 140
Asn Ala Ser Lys Pro Gln Gly Arg Ile Val Gly Gly Lys Val Cys Pro
145                 150                 155                 160
Lys Gly Glu Cys Pro Trp Gln Val Leu Leu Leu Val Asn Gly Ala Gln
                165                 170                 175
Leu Cys Gly Gly Thr Leu Ile Asn Thr Ile Trp Val Val Ser Ala Ala
            180                 185                 190
His Cys Phe Asp Lys Ile Lys Asn Trp Arg Asn Leu Ile Ala Val Leu
        195                 200                 205
Gly Glu His Asp Leu Ser Glu His Asp Gly Asp Glu Gln Ser Arg Arg
    210                 215                 220
Val Ala Gln Val Ile Ile Pro Ser Thr Tyr Val Pro Gly Thr Ile Asn
225                 230                 235                 240
His Asp Ile Ala Leu Leu Arg Leu His Gln Pro Val Val Leu Thr Asp
                245                 250                 255
His Val Val Pro Leu Cys Leu Pro Glu Arg Thr Phe Ser Glu Arg Thr
            260                 265                 270
Leu Ala Phe Val Arg Phe Ser Leu Val Ser Gly Trp Gly Arg Leu Leu
        275                 280                 285
Asp Arg Gly Ala Thr Ala Leu Glu Leu Gln Val Leu Asn Val Pro Arg
    290                 295                 300
Leu Met Thr Gln Asp Cys Leu Gln Gln Ser Arg Lys Val Gly Asp Ser
305                 310                 315                 320
Pro Asn Ile Thr Glu Tyr Met Phe Cys Ala Gly Tyr Ser Asp Gly Ser
                325                 330                 335
Lys Asp Ser Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Ala Thr His Tyr
            340                 345                 350
Arg Gly Thr Trp Tyr Leu Thr Gly Ile Val Ser Trp Gly Gln Gly Cys
        355                 360                 365
Ala Thr Val Gly Phe Phe Gly Val Tyr Thr Arg Val Ser Gln Tyr Ile
    370                 375                 380
Glu Trp Leu Gln Lys Leu Met Arg Ser Glu Pro Arg Pro Gly Val Leu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Ala Pro Phe Pro
                405
```