УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **126441** (13) **C2**

(51) МПК (2022.01)
C07K 19/00
C12N 5/10 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00
A61P 35/02 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО "УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **a 2019 01062**

(22) Дата подання заявки: **10.08.2017**

(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **06.10.2022**

(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **PCT/CN2016/094408**

(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **10.08.2016**

(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **CN**

(41) Публікація відомостей про заявку: **11.03.2019, Бюл.№ 5**

(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **05.10.2022, Бюл.№ 40**

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору PCT: **PCT/CN2017/096938, 10.08.2017**

(72) Винахідник(и):
Фан Сяоху (CA),
Чжуанг Цючуань (CN),
Ван Пінгуань (CN),
Ван Лінь (CN),
Ян Лей (CN),
Хао Цзяін (CN),
Чжао Дань (CN),
Хе Сянь (CN)

(73) Володілець (володільці):
ЛЕДЖЕНД БАЙОТЕК АЙРЛЕНД ЛІМІТЕД, One Spencer Dock, North Wall Quay, Dublin 1, Ireland (IE)

(74) Представник:
Петров Андрій Володимирович, реєстр. №139

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
WO 2016/014789 A2, 28.01.2016
WO 2015/142675 A2, 24.09.2015
WO 2013/123061 A1, 22.08.2013

(54) ХИМЕРНІ АНТИГЕННІ РЕЦЕПТОРИ, НАЦІЛЕНІ НА BCMA, ТА СПОСОБИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

Винахід стосується мультивалентного химерного антигенного рецептора (CAR), який містить поліпептид, що містить:
(a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент, де перший BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою перше анти-BCMA sdAb однодоменне антитіло (sdAb), другий BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою друге анти-BCMA sdAb однодоменне антитіло, і кожне перше sdAb і друге sdAb являє собою VHH домен;
(b) трансмембранний домен; і
(c) внутрішньоклітинний сигнальний домен,
де перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb кожне незалежно являють собою sdAb, що містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність відповідно до будь-якої з SEQ ID NO: 115-152.

UA 126441 C2

Перехресні посилання на споріднені заявки

Ця заявка заявляє пріоритет за міжнародною патентною заявкою № PCT/CN2016/094408, поданою 10 серпня 2016 року, зміст якої включений в цей документ за допомогою посилання в повному об'ємі.

Подання переліку послідовностей у текстовому файлі ASCII

Зміст наступного документа в текстовому файлі ASCII включений в цей опис за допомогою посилання в повному об'ємі: перелік послідовностей у формі, що зчитується машиною (CRF) (ім'я файлу: 761422000640SEQLISTING. Txt, дата запису: 10 серпня 2017 року, розмір: 520 KB).

Галузь техніки, до якої належить цей винахід

Винахід стосується однодоменних антитіл, химерних антигенних рецепторів, сконструйованих імунних ефекторних клітин, які націлюються на BCMA, і способів їхнього застосування.

Рівень техніки цього винаходу

На сьогоднішній день з розвитком імунотерапії пухлин і медичних технологій Т-клітинна імунотерапія на основі химерних антигенних рецепторів (CAR-T) є одним з найбільш перспективних напрямків в імунотерапії пухлин. Як правило, химерний антигенний рецептор (CAR) включає позаклітинний антигензв'язуючий домен, трансмембранний домен і внутрішньоклітинний сигнальний домен. Позаклітинний антигензв'язуючий домен може містити одноланцюговий варіабельний фрагмент (scFv), націлений на ідентифікований пухлинний антиген. CAR можна експресувати на поверхні Т-клітин за допомогою методів трансфекції геннів. При зв'язуванні з пухлинним антигеном-мішенню CAR можуть активувати Т-клітини для запуску специфічного протипухлинної відповіді в антиген-залежний спосіб, не обмежуючись наявністю основних комплексів гістосумісності (MHC), специфічних для пухлинного антигену-мішені.

Однодоменні антитіла (sdAb) відрізняються від звичайних 4-ланцюгових антитіл наявністю одного варіабельного домену мономерного антитіла. Наприклад, представники сімейства верблюжих і акули продукують sdAb, які називаються антитілами тільки з важким ланцюгом (HcAb) і які за своєю природою не мають легких ланцюгів. Антигензв'язуючий фрагмент у кожному плечі антитіла тільки з важким ланцюгом в представників сімейства верблюжих має один варіабельний домен важкого ланцюга (V_HH), який може характеризуватися високою афінністю до антигену без допомоги легкого ланцюга. V_HH у представників сімейства верблюжих відомий як найменший функціональний антигензв'язуючий фрагмент з молекулярною масою близько 15 кД.

Множинна мієлома (ММ) являє собою невиліковну агресивну злоякісну пухлину плазми, яка класифікується як неоплазія В-клітин і неконтрольовано проліферує в кістковому мозку, перешкоджаючи нормальному метаболічному продукуванню клітин крові і обумовлюючи болючі ураження кісток (Garfall, AL et al., Discovery Med. 2014, 17, 37). Клінічно множинна мієлома може проявлятися гіперкальціємією, нирковою недостатністю, анемією, кістковими ураженнями, бактеріальними інфекціями, підвищеною в'язкістю крові і амілоїдозом (Robert Z. Orlowski, Cancer Cell. 2013, 24 (3)). Згідно з дослідженнями та статистикою, щорічно мієлома діагностується у близько 86 000 пацієнтів, при цьому близько 63 000 пацієнтів щорічно вмирають від ускладнень, асоційованих з цією патологією (Becker, 2011). Крім того, через старіння населення прогнозується, що число випадків мієломи буде зростати з року в рік. Як і для багатьох видів раку, щодо множинної мієломи залишається невідомою причина захворювання і не розроблено ефективне лікування. Деякі способи лікування множинної мієломи є аналогічними лікуванню інших видів раку, наприклад, хіміотерапія або променева терапія, трансплантація стовбурових клітин або трансплантація кісткового мозку, таргетна терапія або біологічна терапія (George, 2014). Клітинна імунотерапія на основі антитіл продемонструвала суттєву клінічну ефективність у пацієнтів з гематологічними злоякісними новоутвореннями, особливо при В-клітинній неходжкінській лімфомі. Незважаючи на те, що завдяки сучасним методам лікування множинної мієломи часто можна досягти ремісії, майже у всіх пацієнтів в кінцевому підсумку розвиваються рецидиви. Тому існує потреба в ефективному імунотерапевтичному агенті для лікування множинної мієломи.

LCAR-B38M, описаний у цьому винаході, являє собою двовалентний CAR-T, націлений на BCMA, який вже продемонстрував клінічні переваги з точки зору безпеки та ефективності при лікуванні пацієнтів з рефрактерною або рецидивуючою множинною мієломою в клінічному дослідженні. У клінічному дослідженні ранньої фази, у 33 з 35 (94 %) пацієнтів спостерігали клінічну ремісію множинної мієломи після лікування із застосуванням клітин LCAR-B38M CAR-T. У більшості пацієнтів були тільки легкі побічні ефекти. Це дослідження було представлено головним автором винаходу на щорічній конференції ASCO 2017 (Тези LBA3001) і на брифінгу

для преси, який широко висвітлювався в засобах масової інформації (http://www.ascopost.com/News/55713).

В цілому, показник частоти об'єктивної відповіді склав 100 %, і 33 пацієнта (94 %) досягли очевидної клінічної ремісії мієломи (повну відповідь, дуже добру часткову відповідь або часткову відповідь) протягом 2 місяців лікування із застосуванням клітин CAR T. Після спостереження за групою протягом більше 4 місяців і оцінки ефективності, 14 пацієнтів із 19 досягли критеріїв суворої повної відповіді, 1 пацієнт досяг часткового відповіді, і 4 пацієнта досягли критеріїв дуже доброї часткової ремісії.

Оскільки відмінний профіль ефективності та безпеки, отриманий в клінічних дослідженнях LCAR-B38M, значно перевершує профіль, отриманий в декількох інших дослідженнях BCMA CAR-T, про який також повідомлялося на конференції ASCO, роботи були широко визнані "революційним проривом" в галузі імунотерапії. Примітно, що всі ці конструкції BCMA CAR є звичайними CAR, в яких домен, що зв'язує антиген BCMA, складається з одновалентного антитіла ScFv.

Описи всіх публікацій, патентів, заявок на патент і опублікованих патентних заявок, згаданих у цьому документі, включені в нього за допомогою посилання в повному об'ємі.

Короткий опис цього винаходу

У цьому винаході пропонуються анти-BCMA одно доменні антитіла (sdAb), химерні антигенні рецептори (CAR), що містять одне або більшу кількість анти-BCMA sdAb (як-от V_HH-фрагменти), сконструйовані імунні ефекторні клітини і способи їх застосування при імунотерапії раку.

В одному аспекті цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить CDR-ділянки будь-якої однієї з SEQ ID NO: 115-152. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb містить будь-яку з наведених нижче ділянок: (1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77; (2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; (3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79; (4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80; (5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81; (6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 82; (7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 83; (8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 84; (9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85; (10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86; (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87; (12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 88; (13) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 89; (14) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 90; (15) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 91; (16) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 92; (17) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93; (18) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність

SEQ ID NO: 94; (19) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 95; (20) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96; (21) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 97; (22) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 98; (23) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 99; (24) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 100; (25) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 101; (26) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 102; (27) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 103; (28) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 104; (29) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 105; (30) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 106; (31) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 107; (32) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 108; (33) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 109; (34) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 110; (35) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 111; (36) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 112; (37) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 113; або (38) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 114. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 115-152.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA антитіло тільки з важким ланцюгом (HCAB) або антигензв'язуючий білок, що містить будь-яке з описаних вище анти-BCMA sdAb. Також пропонуються епітопи BCMA, які специфічно зв'язуються з будь-яким з описаних вище анти-BCMA sdAb, і анти-BCMA антитіла (як-от анти-BCMA sdAb), які конкурують з будь-яким з описаних вище анти-BCMA sdAb.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу відповідно до будь-якого з описаних вище анти-BCMA sdAb, анти-BCMA sdAb являє собою верблюже антитіло. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb являє собою химерне антитіло. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb являє собою фрагмент V_HH.

В одному аспекті цього винаходу пропонується химерний антигенний рецептор BCMA, який містить поліпептид, що містить: a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить анти-BCMA sdAb (як-от будь-який одне з анти-BCMA sdAb, описане вище); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього

винаходу CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR є одновалентним. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR є мультивалентним (наприклад, двовалентним або тривалентним). У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR є мультиспецифічним (наприклад, біспецифічним). У деяких варіантах реалізації цього винаходу позаклітинний антигензв'язуючий домен містить щонайменше два анти-BCMA sdAb (як-от будь-який один або більшу кількість анти-BCMA sdAb, описаних вище).

В одному аспекті даного винаходу пропонується мультивалентний химерний антигенний рецептор (CAR), який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість з першого BCMA-зв'язуючого фрагмента і другого BCMA-зв'язуючого фрагмента являє собою анти-BCMA sdAb. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою перше анти-BCMA sdAb, а другий BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою друге анти-BCMA sdAb. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою анти-BCMA sdAb, а другий BCMA-зв'язуючий фрагмент є похідним від антитіла людини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою анти-BCMA sdAb, а другий BCMA-зв'язуючий фрагмент є поліпептидним лігандом BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент специфічно зв'язуються з одним і тим же епітопом на BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент специфічно зв'язуються з різними епітопами на BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент та/або другий BCMA-зв'язуючий фрагмент специфічно зв'язуються з епітопом на BCMA, похідним від амінокислотної послідовності, вибраної з SEQ ID NO: 388-394. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент специфічно зв'язується з епітопом, похідним від SEQ ID NO: 389 та/або 390. У деяких варіантах реалізації цього винаходу другий BCMA-зв'язуючий фрагмент специфічно зв'язується з епітопом, похідним від SEQ ID NO: 391 та/або 392.

В одному аспекті цього винаходу пропонується мультивалентний (як-от двовалентний або тривалентний) химерний антигенний рецептор, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше анти-BCMA sdAb (як-от будь-яке з анти-BCMA sdAb, описаних вище), і друге анти-BCMA sdAb (як-от будь-яке з описаних вище анти-BCMA sdAb); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb специфічно зв'язуються з одним і тим же епітопом на BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb специфічно зв'язуються з різними епітопами на BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb та/або друге анти-BCMA sdAb специфічно зв'язується з епітопом на BCMA, похідним від амінокислотної послідовності, вибраної з SEQ ID NO: 388-394. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb специфічно зв'язується з епітопом, похідним від SEQ ID NO: 389 та/або 390. У деяких варіантах реалізації цього винаходу друге анти-BCMA sdAb специфічно зв'язується з епітопом, похідним від SEQ ID NO: 391 та/або 392.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу, відповідно до будь-якого з багатовалентних CAR, описаних вище, перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (наприклад, перше анти-BCMA sdAb) розташований на N-кінці другого BCMA-зв'язуючого фрагмента (наприклад, другого анти-BCMA sdAb). У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (наприклад, перше анти-BCMA sdAb) розташований на C-кінці другого BCMA-зв'язуючого фрагмента (наприклад, другого анти-BCMA sdAb). У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (наприклад, перше анти-BCMA sdAb) і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент (наприклад, друге анти-BCMA sdAb) є безпосередньо злитими один з одним за допомогою пептидного зв'язку. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (наприклад, перше анти-BCMA sdAb) і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент (наприклад, друге анти-BCMA sdAb) є злитими один з одним за допомогою пептидного лінкера. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж близько 50 (наприклад, не більше ніж близько 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 208-215.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу, відповідно до будь-якого з CAR (включаючи мультивалентні CAR), описаних вище, трансмембранний домен є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD 137, CD80, CD86, CD 152 і PD1. У

деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен є похідним від CD8α або CD28. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 193 або 194.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу, відповідно до будь-якого з CAR (включаючи мультивалентні CAR), описаних вище, внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (як-от Т-клітина). У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 197 або 198.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу, відповідно до будь-якого з CAR (включаючи мультивалентні CAR), описаних вище, внутрішньоклітинний сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен є похідним від костимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, ICOS, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7 -H3, лігандів CD83 та їх комбінацій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен містить цитоплазматичний домен CD28 та/або цитоплазматичний домен CD 137. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 195 та/або SEQ ID NO: 196.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу, відповідно до будь-якого з CAR (включаючи мультивалентні CAR), описаних вище, CAR додатково містить шарнірний домен, розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен є похідним від CD8a. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 192.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу, відповідно до будь-якого з CAR (включаючи мультивалентні CAR), описаних вище, CAR додатково містить сигнальний пептид, розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сигнальний пептид є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8α, ГМКСФ-рецептора α і важкого ланцюга IgG1. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сигнальний пептид є похідним від CD8α. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сигнальний пептид містить амінокислотну послідовність SEQ IDNO: 191.

В одному аспекті цього винаходу пропонується CAR, як зазначено в Таблицях 4 та 5. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 216-256 і 298-335.

В одному аспекті цього винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 115-152, 216-256 і 298-335.

В одному аспекті цього винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує будь-яке з анти-BCMA sdAb або CAR (включаючи мультивалентні CAR), описані вище. У деяких варіантах реалізації цього винаходу послідовність нуклеїнової кислоти вибирають з групи, що складається з SEQ ID NO: 153-190, 257-297 і 336-373. У деяких варіантах реалізації цього винаходу виділена нуклеїнова кислота додатково містить першу послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує перший CAR, при цьому друга послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує другий CAR, є функціонально пов'язаною з першою послідовністю нуклеїнової кислоти за допомогою третьої послідовності нуклеїнової кислоти, що кодує пептид, який самостійно розщеплюється, як-от пептид T2A, P2A або F2A. При цьому третя послідовність нуклеїнової кислоти являє собою SEQ ID NO: 385. У деяких варіантах реалізації цього винаходу виділена нуклеїнова кислота являє собою молекулу ДНК. У деяких варіантах реалізації цього винаходу виділена нуклеїнова кислота являє собою молекулу РНК.

В одному аспекті цього винаходу пропонується вектор, що містить будь-яку з виділених нуклеїнових кислот, описаних вище. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою експресійний вектор. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою вірусний вектор. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою лентивірусний вектор. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою невірусний вектор.

В одному аспекті цього винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина, яка містить будь-який один з CAR (включаючи мультивалентні CAR), описаних вище, або будь-яку одну з виділених нуклеїнових кислот, описаних вище, або будь-який з векторів, описаних вище. У деяких варіантах реалізації цього винаходу імунна ефекторна клітина являє собою Т-клітину, NK-клітину, мононуклеарну клітину периферичної крові (МКПК), гемопоетичну

стовбурову клітину, плюрипотентну стовбурову клітину або ембріональну стовбурову клітину. У деяких варіантах реалізації цього винаходу імунна ефекторна клітина являє собою Т-клітину.

В одному аспекті цього винаходу пропонується фармацевтична композиція, що містить будь-яку з сконструйованих імунних ефекторних клітин, описаних вище, і фармацевтично прийнятний носій. Додатково пропонується спосіб лікування раку в індивідуума, що включає введення індивідууму ефективної кількості будь-якої з фармацевтичних композицій, описаних вище. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є алогенною. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою гемобластоз. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою множинну мієлому, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою солідний рак, як-от глиобластома. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою рефрактерну або рецидивуючу множинну мієлому.

В одному аспекті цього винаходу пропонується фармацевтична композиція, що містить будь-яке одне з анти-BCMA sdAb, описаних вище, і фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб лікування захворювання (як-от рак) у індивідуума, що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції.

Також пропонуються способи застосування, набори і готові вироби, що містять будь-яке одне з анти-BCMA sdAb, CAR (включаючи мультивалентні CAR), сконструйовані імунні ефекторні клітини, виділені нуклеїнові кислоти або вектори, описані вище.

Короткий опис графічних матеріалів

[32] На Фіг. 1A-1B наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин in vitro, які експресують типові моноспецифічні CAR, що містять різні анти-BCMA sdAb проти клітин RPMI8226.Luc (Фіг. 1A) або клітин U87MG.Luc (Фіг. 1B).

На Фіг. 2A-2C наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин in vitro, які експресують типові моноспецифічні CAR, що містять різні анти-BCMA sdAb проти клітин RPMI8226.Luc (Фіг. 2A), клітин K562. BCMA.Luc (Фіг. 2B) або клітин K562. CD19Xuc (Фіг. 2C).

На Фіг. 3 наведені результати аналізу вивільнення IFNγ Т-клітинами in vitro, які експресують типові моноспецифічні CAR, що містять різні анти-BCMA sdAb проти клітин K562. BCMA.Luc.

На Фіг. 4A-4C наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин in vitro, які експресують типові мультиспецифічні BCMA CAR проти клітин RPMI8226.Luc (Фіг. 4A-4B) або клітин U87MG.Luc (Фіг. 4C).

На Фіг. 5A-5E наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин in vitro, які експресують типові двовалентні BCMA CAR проти клітин RPMI8226.Luc (Фіг. 5A), клітин K562. CD19.Luc (Фіг. 5B), клітин A549.Luc (Фіг. 5C), клітин U87MG.Luc (Фіг. 5D) або клітин Raji.Luc (Фіг. 5E).

На Фіг. 5F наведені результати аналізу цитотоксичності Т-клітин in vitro, які експресують типові двовалентні BCMA CAR проти клітин K562. BCMA.Luc і клітин K562.CD38.Luc.

На Фіг. 6A наведені результати аналізу вивільнення IFNγ Т-клітинами in vitro, які експресують типові двовалентні BCMA CAR проти клітин K562. BCMA.Luc з двома різними співвідношеннями ефекторних клітин до клітин-мішеней.

На Фіг. 6B наведені результати аналізу вивільнення IFNγ Т-клітинами in vitro, які експресують типові двовалентні BCMA CAR проти клітин RPMI8226.Luc, A549.Luc, K562.CD38.Luc і клітин Raji.Luc.

На Фіг. 7A-7C продемонстроване зв'язування трьох типових фрагментів VHH з клітинами K562. BCMA.Luc і клітинами K562.CD38.Luc (негативний контроль).

На Фіг. 8A продемонстрована кристалічна структура позаклітинного домену BCMA. На Фіг. 8B продемонстровані пептиди епітопу BCMA.

На Фіг. 9A-9B наведені результати аналізу епітопного картування VHH1 і VHH2.

На Фіг. 10 наведені результати конкурентного аналізу зв'язування із застосуванням клітин CHO-BCMA.

На Фіг. 11 продемонстрована цитотоксичність in vitro отриманих від донора Т-клітин, що експресують LCAR-B38M проти клітин RPMI8226.Luc.

На Фіг. 12A продемонстрована цитотоксичність LCAR-B38M CAR-T-клітин in vitro, отриманих від вибраного донора, проти клітин RPMI8226.Luc. На Фіг. 12B-12E продемонстрована протипухлинна активність LCAR-B38M CAR-T-клітин in vivo в моделі ксенотрансплантата пухлини у мишей. На Фіг. 12B наведені дані біолюмінесцентної візуалізації у мишей, які отримували LCAR-B38M CAR-T, і мишей, які отримували нетрансдуковані Т-клітини (UnT). На Фіг. 12C продемонстрований дизайн дослідження і біолюмінесцентні зображення мишей в групі

CAR-T і в групі UnT. На Фіг. 12D продемонстровані зображення печінки мишей, які отримували UnT. На Фіг. 12E продемонстрований люциферазний аналіз ex vivo, що підтверджує пухлини в печінці мишей, які отримували UnT.

На Фіг. 13A-13F продемонстровані клінічні параметри двох мавп, які отримували LCAR-B38M CAR-T-клітини. Клінічні параметри, що контролювалися в дослідженні, включали температуру тіла (Фіг. 13A), вагу тіла (Фіг. 13B), загальний аналіз крові (ЗАК, Фіг. 13C і 13D), а також біохімічний аналіз сироватки і рівні цитокінів (Фіг. 13E і 13F).

На Фіг. 14A-C продемонстровані аналізи цитотоксичності LCAR-B38M CAR-T-клітин і LCAR-B27S CAR-T-клітин, отриманих від тих же трьох пацієнтів з множинною мієломою відповідно. На Фіг. 14A продемонстровані результати цитотоксичності LCAR-B38M CAR-T-клітин і LCAR-B27S CAR-T-клітин in vitro, отриманих від пацієнта A з множинною мієломою. На Фіг. 14B продемонстровані результати цитотоксичності LCAR-B38M CAR-T-клітин і LCAR-B27S CAR-T-клітин in vitro, отриманих від пацієнта B з множинною мієломою. На Фіг. 14C продемонстровані результати цитотоксичності LCAR-B38M CAR-T-клітин і LCAR-B27S CAR-T-клітин in vitro, отриманих від пацієнта C з множинною мієломою.

На Фіг. 15A наведене порівняння структури CAR на основі V_HH і звичайного CAR на основі scFv. Схематична структура зліва демонструє типовий моноспецифічний одновалентний CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить домен VHH. Схематична структура справа демонструє типовий моноспецифічний одновалентний CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить домен scFv.

На Фіг. 15B наведене порівняння структури CAR на основі V_HH, має дві антигензв'язуючих ділянки, і звичайного CAR на основі scFv, що має дві антигензв'язуючих ділянки. Схематична структура зліва демонструє типовий CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить два домени V_HH. Два домени V_HH можуть бути однаковими або різними. Схематична структура справа демонструє типовий CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить домен scFv. Два домени scFv можуть бути однаковими або різними.

На Фіг. 15C продемонстровані схематичні структури типових двовалентних і біспецифічних CAR на основі V_HH. Схематична структура на верхній лівій панелі ілюструє типовий одноепітопний, двовалентний CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, який містить два ідентичних домени VhH, кожен з яких специфічно зв'язується з епітопом 1 антигену A. Схематична структура на верхній правій панелі ілюструє типовий двоепітопний, двовалентний CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший домен V_HH, який специфічно зв'язується з епітопом 1 антигену A, і другий домен V_HH, який специфічно зв'язується з епітопом 2 антигену A. Епітоп 1 і епітоп 2 антигену A можуть відрізнятися за своєю структурою та/або послідовностями. Схематична структура в нижній лівій панелі ілюструє типовий біспецифічний CAR, що має позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший домен V_HH, який специфічно зв'язується з антигеном A, і другий домен V_HH, який специфічно зв'язується з антигеном B. Антиген A і антиген B являють собою різні антигени.

На Фіг. 15D продемонстровані схематичні структури типових CAR на основі V_HH, що мають три або більшу кількість доменів V_HH. CAR можуть мати багато доменів V_HH, злитих один з одним безпосередньо або за допомогою пептидних лінкерів. Домени V_HH можуть бути однаковими або різними. Різні домени V_HH можуть специфічно зв'язуватися з різними епітопами на одному і тому ж антигені або на різних антигенах.

На Фіг. 15E продемонстровані типові сконструйовані імунні ефекторні клітини, що коекспресують два різних CAR на основі V_HH. Типові сконструйовані імунні ефекторні клітини на лівій панелі коекспресують два різних моноспецифічних одновалентних CAR. Типові сконструйовані імунні ефекторні клітини на середній панелі коекспресують моноспецифічний, моновалентний CAR і біспецифічний або двовалентний CAR. Типові сконструйовані імунні ефекторні клітини на правій панелі коекспресують два різних біспецифічних або двовалентних CAR. CAR можуть розпізнавати різні антигени.

Детальний опис сутності цього винаходу

В цьому винаході пропонуються однодоменні антитіла анти-BCMA і химерні антигенні рецептори (CAR), що містять позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить один або більшу кількість BCMA-зв'язуючих фрагментів (як-от анти-BCMA sdAb). Також пропонуються мультивалентні CAR, що містять щонайменше два зв'язуючі фрагменти (як-от sdAb), які специфічно зв'язуються з одним антигеном. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонуються мультивалентні (як-от двовалентні або тривалентні) CAR, що містять щонайменше два анти-BCMA sdAb. У деяких варіантах реалізації цього винаходу щонайменше два анти-BCMA sdAb представляють собою різні анти-BCMA sdAb, які специфічно зв'язуються з

різними епітопами на BCMA. Анти-BCMA sdAb, CAR і сконструйовані імунні клітини, які експресують CAR, описані в цьому винаході, є придатними агентами для лікування раку.

Примітно, що в цьому винаході продемонстрована висока ефективність двовалентних двоепітопних CAR, що містять два анти-BCMA sdAb, націлених на різні епітопи BCMA (наприклад, LCAR-B38M), при лікуванні множинної мієломи у пацієнтів. При проміжному аналізі результатів клінічних досліджень фази I/II, 100 % пацієнтів з рецидивуючою або рефрактерною множинною мієломою відповіли на лікування LCAR-B38M CAR-T. 94 % пацієнтів досягли клінічної ремісії мієломи протягом 2 місяців лікування із застосуванням CAR-T. Пацієнти, які досягли критеріїв суворої повної відповіді (сПВ), не мали симптомів захворювання або мали мінімальні залишкові ознаки захворювання після більш ніж року лікування із застосуванням CAR-T. Крім того, лікування із застосуванням LCAR-B38M CAR-T добре переносилося пацієнтами, оскільки у більшості пацієнтів спостерігали тільки легкі і контрольовані ознаки синдрому вивільнення цитокінів, що є загальним побічним ефектом терапії на основі CAR-T-клітин. Неврологічні побічні ефекти не спостерігалися у жодного з пацієнтів. Для порівняння, пілотне клінічне дослідження одновалентного CAR, що містить одне анти-BCMA sdAb, продемонструвало нижчі показники частоти об'єктивної відповіді і частоти повної ремісії та вищий показник частоти рецидиву серед пролікованих пацієнтів. До цього винаходу, всі BCMA CAR в клінічних дослідженнях мали тільки один BCMA-зв'язуючий фрагмент у позаклітинному антигензв'язуючому домені. Підвищення клінічної ефективності та безпеки мультивалентних BCMA CAR за цим винаходом було несподіваним.

Відповідно, в одному аспекті цього винаходу пропонується мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить багато однодоменних антитіл (sdAb), який специфічно зв'язуються з BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен.

В іншому аспекті пропонується мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от перше анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от друге анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу.

Крім того, пропонуються нові анти-BCMA sdAb і CAR, що містять один або більшу кількість з анти-BCMA sdAb, описаних в цьому документі.

Також в цьому документі описані сконструйовані імунні ефекторні клітини (як-от Т-клітини), що містять CAR, фармацевтичні композиції, набори, готові вироби та способи лікування раку із застосуванням сконструйованих імунних ефекторних клітин або sdAb.

I. Визначення

Термін "антитіло" включає моноклональні антитіла (включаючи повнорозмірні 4-ланцюгові антитіла або повнорозмірні антитіла тільки з важким ланцюгом, які мають Fc-ділянку імуноглобуліну), композиції антитіл з поліепітопічною специфічністю, мультиспецифічні антитіла (наприклад, біспецифічні антитіла, діатіла і одноланцюгові молекули), а також фрагменти антитіл (наприклад, Fab, F $(ab')_2$ і Fv). В цьому контексті термін "імуноглобулін" (Ig) застосовується взаємозамінно з терміном "антитіло". Антитіла, що розглядаються в цьому документі, включають в себе однодоменні антитіла, як-от антитіла тільки з важким ланцюгом.

Основною одиницею 4-ланцюгового антитіла є гетеротетрамерний глікопротеїн, що складається з двох ідентичних легких (L) ланцюгів і двох ідентичних важких (H) ланцюгів. Антитіло IgM складається з 5 основних гетеротетрамерних одиниць разом з додатковим поліпептидом, який називається J-ланцюгом, і містить 10 антигензв'язуючих ділянок, тоді як антитіла IgA складаються з 2-5 основних 4-ланцюгових одиниць, які можуть полімеризуватися з утворенням полівалентних комплексів в комбінації з J -ланцюгом. У випадку IgG, 4-ланцюгова одиниця зазвичай має масу 150000 Дальтон. Кожний L-ланцюг зв'язаний з H-ланцюгом за допомогою одного ковалентного дисульфідного зв'язку, тоді як два H-ланцюга зв'язані один з одним за допомогою одного або більшої кількості дисульфідних зв'язків в залежності від ізотипу H-ланцюга. Кожний H- і L-ланцюг також має розташовані з рівними інтервалами міжланцюгові дисульфідні містки. На N-кінці, кожний H-ланцюг має варіабельний домен (V_H), за яким слідують три константних домени (C_H) для кожного α- і γ-ланцюгів і чотири C_H -домени для μ- і ε-ізотипів. На N-кінці, кожний L-ланцюг має варіабельний домен (Vl), за яким слідує константний домен на його іншому кінці. V_L вирівнюється з V_H, а C_L вирівнюється з першим константним доменом важкого ланцюга (C_H1). Передбачається, що конкретні амінокислотні залишки утворюють ділянку взаємодії між варіабельними доменами легкого і важкого ланцюга. Парування V_H і V_L разом утворює антигензв'язуючу ділянку. Щодо структури і властивостей різних класів антитіл,

див., наприклад, Basic and Clinical Immunology, 8th Edition, Daniel P. Sties, Abba I. Terr і Tristram G. Parsolw (eds), Appleton & Lange, Norwalk, Conn., 1994, стор. 71 і Глава 6. L-ланцюг з будь-якого виду хребетних може бути віднесений до одного з двох чітко відмінних типів, які називаються каппа і лямбда, на підставі амінокислотних послідовностей їх константних доменів.

Залежно від амінокислотної послідовності константного домену своїх важких ланцюгів (C_H), імуноглобуліни можна віднести до різних класів або ізотипів. Існує п'ять класів імуноглобулінів: IgA, IgD, IgE, IgG і IgM, що мають важкі ланцюги, позначені відповідно α, δ, ε, γ і μ. Класи γ і α додатково поділяються на підкласи на основі відносно незначних відмінностей в послідовності C_H і функціонування, наприклад, організм людини експресує наступні підкласи: IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3, IgG4, IgA1 і IgA2.

Термін "антитіло тільки з важким ланцюгом" або "HCAb" відноситься до функціонального антитіла, яке містить важкі ланцюги, але не містить легких ланцюгів, які зазвичай зустрічаються в 4-ланцюгових антитілах. Відомо, що тварини сімейства верблюжих (наприклад, верблюди, лами або альпаки) продукують HCAb.

Термін "однодоменне антитіло" або "sdAb" відноситься до поліпептиду, що зв'язує один антиген і має три ділянки, що визначають комплементарність (CDR). Антитіло sdAb саме здатне зв'язуватися з антигеном без спарювання з відповідним поліпептидом, що містить CDR. У деяких випадках однодоменні антитіла сконструйовані з верблюжих антитіл HCAb, а їх варіабельні домени важкого ланцюга згадуються в цьому документі як "V_HH ". Деякі V_HH також можуть бути відомі як нанотіла. Верблюже sdAb є одним з найменших відомих антигензв'язуючих фрагментів антитіл (див., наприклад, Hamers-Casterman et al., Nature 363: 446-8 (1993); Greenberg et al., Nature 374: 168-73 (1995); Hassanzadeh-Ghassabeh et al., Nanomedicine (Lond), 8: 1013-26 (2013)). Основний VhH має наступну структуру від N-кінця до C-кінця: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4, в якому FR1-FR4 відносяться до каркасних ділянок з 1 по 4, і в якому CDR1-CDR3 відносяться до ділянок 1-3, що визначають комплементарність.

"Виділеним" антитілом є таке антитіло, яке було ідентифіковане, виділене та/або вилучене з компонента середовища, що його продукує (наприклад, природне або рекомбінантне). Прийнятніше, виділений поліпептид не зв'язаний з будь-якими іншими компонентами з середовища, що його продукує. Контамінуючі компоненти середовища, що його продукує, як-от рекомбінантні трансфіковані клітини, являють собою речовини, які, як правило, перешкоджають проведенню дослідження, діагностичному або терапевтичному застосуванню антитіл і можуть включати в себе ферменти, гормони та інші білкові або небілкові розчинені речовини. У прийнятніших варіантах реалізації цього винаходу поліпептид буде очищений: (1) більш ніж на 95 % мас. антитіла, наприклад, за методикою Лоурі, а в деяких варіантах реалізації - більш ніж на 99 % мас; (1) до ступеня, що є достатнім для отримання щонайменше 15 залишків N-кінцевої або внутрішньої амінокислотної послідовності за допомогою секвенатора зі склянкою, що обертається, або (3) до отримання гомогенності за допомогою електрофорезу в ДСН-ПААГ у відновлювальних або невідновлювальних умовах із застосуванням, наприклад, барвника Кумассі синього або, прийнятніше, срібного. Виділене антитіло включає антитіло in situ в рекомбінантних клітинах, оскільки щонайменше один з компонентів природного середовища антитіла відсутній. У той же час, виділений поліпептид або антитіло, як правило, отримують із застосуванням щонайменше одного етапу очищення.

Термін "варіабельна ділянка" або "варіабельний домен" антитіла відноситься до N-кінцевих доменів важкого або легкого ланцюга антитіла. Варіабельні домени важкого ланцюга і легкого ланцюга можуть бути позначені як " V_H" і " V_L", відповідно. Як правило, ці домени є найбільш варіабельними частинами антитіла (відносно інших антитіл того ж класу) і містять антигензв'язуючі ділянки. Антитіла тільки з важким ланцюгом, отримані від представників видів верблюжих, мають одну варіабельну ділянку важкого ланцюга, яка позначається як "V_HH". Таким чином, V_HH є особливим типом V_H.

Термін "варіабельний" стосується того факту, що серед антитіл деякі сегменти варіабельних доменів сильно відрізняються за послідовностями. V-домен опосередковує антигенне зв'язування і визначає специфічність конкретного антитіла до його конкретного антигену. У той же час варіабельність не є рівномірно розподіленим по всьому діапазону варіабельних доменів. Навпаки, варіабельність зосереджена в трьох сегментах варіабельних доменів як легкого, так і важкого ланцюга, які називаються гіперваріабельними ділянками (HVR). Більш консервативні фрагменти варіабельних доменів називаються каркасними ділянками (FR). Кожен варіабельний домен природних легких і важких ланцюгів містить чотири FR-ділянки, які переважно приймають конфігурацію бета-листа і з'єднані трьома HVR, що утворюють петлі, які з'єднують структури бета-типу, а в деяких випадках - являються їхньою частиною. HVR кожної ланцюга об'єднані одна з одною в безпосередній близькості від FR-ділянок і, разом з HVR іншого ланцюга, беруть

участь в утворенні антигензв'язуючої ділянки антитіла (див. Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md. (1991)). Константні домени не беруть безпосередньої участі у зв'язуванні антитіла з антигеном, однак виявляють різні ефекторні функції, як-от участь антитіла в антитілозалежній клітинній токсичності.

В цьому контексті термін "моноклональне антитіло" відноситься до антитіла, отриманого з популяції по суті однорідних антитіл, тобто з популяції, окремі антитіла в якій є ідентичними, за винятком можливих природних мутацій та/або посттрансляційних модифікацій (наприклад, ізомеризації, амідування), які можуть бути присутніми в незначних кількостях. Моноклональні антитіла є високоспецифічними, оскільки вони спрямовані на одну антигенну ділянку. На відміну від препаратів поліклональних антитіл, які зазвичай включають в себе різні антитіла, спрямовані проти різних детермінант (епітопів), кожне моноклональне антитіло направлене на одну детермінанту антигену. Крім своєї специфічності, перевага препаратів моноклональних антитіл полягає в тому, що вони синтезовані гібридомною культурою або рекомбінантно і не контаміновані іншими імуноглобулінами. Визначення "моноклональне" вказує на характеристику антитіла, отриманого по суті з однорідної популяції антитіл, і не повинно бути витлумачено як необхідність отримання антитіла будь-яким конкретним способом. Наприклад, моноклональні антитіла, які будуть застосовуватися відповідно до цього винаходу, можна отримати різними способами, включаючи, наприклад, гібридомну технологію (наприклад, Kohler and Milstein., Nature, 256: 495-97 (1975); Hongo et al., Hybridoma, 14 (3): 253-260 (1995), Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling et al., In: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, NY, 1981)), технології рекомбінантних ДНК (див., наприклад, патент США № 4816567), технології фагового дисплею (див., наприклад, Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); и Lee et al., J. Immunol. Methods 284 (1-2): 119-132 (2004), і технології продукції антитіл людини або аналогів антитіл людини в організмах тварин, які частково або повністю містять локуси або гени імуноглобулінів людини, які кодують послідовності імуноглобулінів людини (див., наприклад, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 2551 (1993); Jakobovits et al., Nature 362: 255-258 (1993); Bruggemann et al., Year in Immunol. 7: 33 (1993); патенти США №№. 5545807; 5545806; 5569825; 5625126; 5633425; і 5661016; Marks et al., Bio/Technology 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., Nature 368: 856-859 (1994); Morrison, Nature 368: 812-813 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnol. 14: 845-851 (1996); Neuberger, Nature Biotechnol. 14: 826 (1996); і Lonberg і Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93 (1995).

Термін "голе антитіло" відноситься до антитіла, яке не кон'юговане з цитотоксичним фрагментом або радіоактивною міткою.

Терміни "повнорозмірне антитіло", "інтактне антитіло" або "ціле антитіло" в цьому документі є взаємозамінними і відносяться до антитілу по суті в його інтактній формі, на відміну від фрагмента антитіла. Зокрема, повнорозмірні 4-ланцюгові антитіла включають в себе такі антитіла, які мають важкий і легкий ланцюги, включаючи Fc-ділянка. Повнорозмірні антитіла тільки з важким ланцюгом включають в себе важкий ланцюг (як-от V_HH) і Fc-ділянка. Константні домени можуть бути константними доменами нативних послідовностей (наприклад, константні домени нативних послідовностей людини) або їхніми варіантами амінокислотних послідовностей. У деяких випадках інтактне антитіло може мати одну або більшу кількість ефекторних функцій.

"Фрагмент антитіла" містить частину інтактного антитіла, прийнятніше антигензв'язуючу та/або варіабельну ділянку інтактного антитіла. Приклади фрагментів антитіл включають Fab-, Fab'-, F $(ab')_2$ і Fv-фрагменти; діатіла; лінійні антитіла (див. патент США № 5641870, Приклад 2; Zapata et al., Protein Eng. 8 (10): 1057-1062 [1995]); молекули одноланцюгових антитіл; однодоменних антитіла (як-от V_HH) і мультиспецифічні антитіла, утворені з фрагментів антитіл. При розщепленні антитіл папаїном утворюються два ідентичних антигензв'язуючих фрагменти, які називаються "Fab"-фрагменти, і залишковий "Fc"-фрагмент, назва якого відображає його здатність легко кристалізуватися. Fab-фрагмент складається з цілого L-ланцюга разом з доменом варіабельної ділянки H-ланцюга (V_H), і першим константним доменом з одного важкого ланцюга (C_H1). Кожний Fab-фрагмент є моновалентним відносно зв'язування антигену, тобто він має одну антигензв'язуючу ділянку. Обробка антитіла пепсином дозволяє отримати один великий $F(ab')_2$-фрагмент, який умовно відповідає двом дисульфіднозв'язаним Fab-фрагментам, які мають різну антигензв'язуючу активність і, як і раніше, здатні до перехресного зв'язування антигену. Fab'-фрагменти відрізняються від Fab-фрагментів тим, що мають кілька додаткових

залишків на карбоксильному кінці домену C_H1, включаючи в себе один або більшу кількість цистеїну з шарнірної ділянки антитіла. В цьому описі Fab'-SH являє собою позначення Fab', в якому цістеіновий(і) залишок(и) константних доменів несе (несуть) вільну тіольну групу. $F(ab')_2$-фрагменти антитіла спочатку отримували у вигляді пар Fab'-фрагментів, між якими знаходяться шарнірні залишки цистеїну. Відомі також інші варіанти хімічного зв'язування фрагментів антитіл.

Fc-фрагмент містить карбокситермінальні частини обох H-ланцюгів, що утримуються разом дисульфідними зв'язками. Ефекторні функції антитіл визначаються за послідовностями в Fc-ділянці; ця ділянка також є ділянкою, яка розпізнається Fc-рецепторами (FcR), виявленими на певних типах клітин.

"Fv" являє собою мінімальний фрагмент антитіла, що містить повну антигенрозпізнавальну і антигензв'язуючу ділянку. Цей фрагмент складається з димеру одного домену варіабельної ділянки важкого ланцюга і одного домену варіабельної ділянки легкого ланцюга, з'єднаних жорстким нековалентним зв'язком. В результаті фолдингу цих двох доменів формуються шість гіперваріабельних петель (по 3 петлі з H і L-ланцюга), які вносять амінокислотні залишки для зв'язування антигену і надають антигензв'язуючу специфічність до антитіла. У той же час навіть один варіабельний домен (або половина Fv, що містить тільки три HVR, специфічних по відношенню до антигену) має здатність розпізнавати і зв'язувати антиген, хоча і з більш низькою афінністю, ніж повна ділянка зв'язування.

"Одноланцюгові Fv", що також мають абревіатуру "sFv" або "scFv", являють собою фрагменти антитіл, які містять домени антитіл V_H і V_L, зв'язані в один поліпептидний ланцюг. Прийнятніше, поліпептид scFv додатково містить поліпептидний лінкер між доменами V_H і V_L, які дають можливість scFv утворювати необхідну структуру для зв'язування антигенів. Для огляду sFv, див. публікацію Pluckthun в The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

"Функціональні фрагменти" описаних в цьому документі антитіл містять частину інтактного антитіла, яка зазвичай включає антигензв'язуючу або варіабельну ділянку інтактного антитіла або Fc-ділянку антитіла, яка зберігає або модифікує здатність зв'язуватися FcR. Приклади фрагментів антитіл включають в себе лінійні антитіла, молекули одноланцюгових антитіл і мультиспецифічні антитіла, утворені з фрагментів антитіл.

Термін "діатіла" відноситься до малих фрагментів антитіл, отриманих в результаті конструювання sFv-фрагментів (див. попередній параграф) з короткими лінкерами (близько 5-10 залишків) між доменами V_H і V_L, з метою забезпечення спарювання V-доменів між ланцюгами, але не всередині ланцюгів, в результаті чого утворюється двовалентний фрагмент, тобто фрагмент, що має дві антигензв'язуючих ділянки. Біспецифічні антитіла являють собою гетеродімери двох "кросоверних" sFv-фрагментів, в яких домени V_H і V_L двох антитіл містяться на різних поліпептидних ланцюгах. Діатіла описані більш детально, наприклад, в EP 404097; WO 93/11161; Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Set USA 90: 6444-6448 (1993).

Моноклональні антитіла в цьому документі зокрема включають в себе "химерні" антитіла (імуноглобуліни), в яких частина важкого та/або легкого ланцюга є ідентичною або гомологічною відповідним послідовностям антитіл конкретного виду тварин або антитіл, що належать до конкретного класу або підкласу, в той час як інша частина ланцюга(ів) є ідентичною або гомологічною відповідним послідовностям антитіл іншого виду тварин або антитіл, що належать до іншого класу або підкласу, а також фрагменти таких антитіл, за умови, що вони проявляють бажану біологічну активність (описано в патенті США № 4816567 та статті Morrison et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)). Химерні антитіла, що представляють інтерес, включають в себе антитіла PRIMATTZFD®, в яких антигензв'язуюча ділянка антитіла походить від антитіл, отриманих, наприклад, шляхом імунізації мавп макак антигеном, що представляє інтерес.

В цьому контексті термін "гуманізоване антитіло" застосовується для позначення підмножини "химерних антитіл".

"Гуманізовані" форми антитіл нелюдського походження (наприклад, верблюда) являють собою химерні антитіла, що містять мінімальні послідовності, які є похідними від імуноглобуліну нелюдського походження. У деяких варіантах реалізації цього винаходу гуманізоване антитіло являє собою імуноглобулін людини (реципієнтне антитіло), в якому залишки з HVR реципієнта (надалі описані) замінюють залишками з HVR виду нелюдського походження (донорське антитіло), наприклад, миші, щура, кролика або примата, який не є людиною, що володіє бажаною специфічністю, афінністю та/або активністю. У деяких випадках каркасні ("FR") залишки імуноглобуліну людини замінюють відповідними залишками нелюдського походження. Крім того, гуманізовані антитіла можуть містити залишки, відсутні в реципієнтному антитілі або в донорському антитілі. Ці модифікації можна здійснити для подальшого уточнення характеристик

антитіл, як-от афінність зв'язування. Як правило, гуманізоване антитіло містить по суті всі або щонайменше один, а зазвичай два варіабельних домени, в яких всі або по суті всі гіперваріабельні петлі відповідають гіперваріабельним петлям послідовності імуноглобуліну нелюдського походження, і всі або по суті всі FR-ділянки є такими ділянками, які відносяться до послідовності імуноглобуліну людини, проте FR-ділянки можуть включати в себе одну або більшу кількість замін окремих FR-залишків, що покращує характеристики антитіл, як-от афінність зв'язування, ізомеризація, імуногенність тощо. Кількість цих амінокислотних замін в FR зазвичай не перевищує 6 в H-ланцюзі, а в L-ланцюзі - не більше 3. Гуманізуване антитіло, необов'язково, також містить щонайменше ділянку константної ділянки імуноглобуліну (Fc), як правило, імуноглобуліну людини. Додаткову інформацію див., наприклад, в публікаціях Jones et al., Nature 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332: 323-329 (1988); і Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2: 593-596 (1992). Крім того, див., наприклад, Vaswani і Hamilton, Ann. Allergy, Asthma Sdmrnunol 1: 105-115 (1998); Harris, Biochem. Soc. Transactions 23: 1035-1038 (1995); Hurle і Gross, Curr. Op. Biotech. 5: 428-433 (1994); і патенти США №№ 6982321 і 7087409.

"Антитіло людини" являє собою антитіло, що має амінокислотну послідовність, яка відповідає послідовності антитіла, продукованого в організмі людини та/або отриманого за допомогою будь-якої методики отримання антитіл людини, описаної в цьому документі. Це визначення антитіла людини, зокрема, не включає гуманізоване антитіло, що містить антигензв'язуючі залишки нелюдського походження. Антитіла людини можна отримати за допомогою різних методик, відомих в цій області техніки, включаючи бібліотеки фагового дисплею. Hoogenboom і Winter, J. Mol. Biol, 227: 381 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol, 222: 581 (1991). Також доступними для отримання моноклональних антитіл людини є способи, описані в Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., J. Immunol., 147 (1): 86-95 (1991). Див. також van Dijk і van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol., 5: 368-74 (2001). Антитіла людини можна отримати шляхом введення антигену в організм трансгенної тварини, модифікованої з метою продукції таких антитіл у відповідь на антигенну стимуляцію, але при цьому ендогенні локуси вказаної тварини відключені, наприклад, імунізованих ксеномишей (див., наприклад, патенти США №№ 6075181 і 6150584 про технології XENOMOUSE™). Інформацію про антитіла людини, отримані за допомогою технології В-клітинних гібридом людини, див., наприклад, в публікації Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103: 3557-3562 (2006)

В цьому контексті термін "гіперваріабельна ділянка", "HVR" або "HV" відноситься до ділянок варіабельного домену антитіла, які характеризуються гіперваріабельністю послідовностей та/або утворюють структурно визначені петлі. Як правило, sdAb містять три HVR (або CDR): HVR1 (або CDR1), HVR2 (або CDR2) і HVR3 (або CDR3). HVR3 відображає найбільшу різноманітність трьох HVR і, як вважають, відіграє унікальну роль в наданні тонкої специфічності антитіл. Див., наприклад, Hamers-Casterman et al., Nature 363: 446-448 (1993); Sheriffs al, Nature Struct. Biol. 3: 733-736 (1996).

Термін "ділянка, що визначає компліментарність" або "CDR" застосовується для позначення гіперваріабельних ділянок, визначених системою Кабата. Див. Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)

Ряд описів HVR застосовується і охоплюється в цьому документі. Визначення "ділянок, що визначають комплементарність (CDR)" за Кабатом грунтується на мінливості послідовності і застосовується найбільш часто (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). Чотіа натомість вказує на розташування структурних петель (Chothia і Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)). AbM HVR являють собою компроміс між CDR за Кабатом і структурними петлями за Чотіа і застосовуються в програмному забезпеченні для моделювання антитіл АЬМ від Oxford Molecular. "Контактні" HVR грунтуються на аналізі доступних складних кристалічних структур. Залишки з кожної з цих HVR позначені нижче в Таблиці 1.

Таблиця 1

Визначення HVR.

Петля	Кабат	AbM	Чотіа	Контакт
L1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
HI (Нумерація за Кабатом)	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B
H1 (Нумерація за Чотіа)	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35
H2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H96-H101	H93-H101

HVR можуть містити "розширені HVR": 24-36 або 24-34 (L1), 46-56 або 50-56 (L2) і 89-97 або 89-96 (L3) в V_L і 26-35 (H1), 50-65 або 49-65 (H2), і 93-102, 94-102 або 95-102 (H3) в V_H. Для кожного з цих визначень залишки в варіабельних доменах нумеруються за Kabat et al., вище.

Амінокислотні залишки sdAb (як-от V_HH) нумеруються відповідно до загальної нумерації для доменів V_H за Kabat et al. ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, Md., Publication No. 91), стосовно доменів V_HH, отриманих від представників сімейства верблюжих в статті Riechmann і Muyldermans, J. Immunol. Methods 2000 Jun. 23; 240 (1-2): 185-195. Відповідно до цієї нумерації FR1 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 1-30, CDR1 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 31-35, FR2 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 36-49, CDR2 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 50-65, FR3 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 66-94, CDR3 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 95-102 і FR4 V_HH містить амінокислотні залишки в положеннях 103-113. В цьому відношенні слід відзначити, що, як добре відомо в цій галузі техніки для доменів V_H і для доменів V_HH, загальна кількість амінокислотних залишків в кожній з CDR може варіюватися і може не відповідати загальній кількості амінокислотних залишків, позначених відповідно до нумерації за Кабатом (тобто, одне або більша кількість положень згідно з нумерацією за Кабатом не обов'язково можуть бути зайняті в конкретній послідовності, або конкретна послідовність може містити більше амінокислотних залишків, ніж кількість, допустима нумерацією за Кабатом).

Визначення "нумерація залишків варіабельного домену за Кабатом" або "нумерація положень амінокислот за Кабатом" і їх варіанти відносяться до системи нумерації, яка застосовується для варіабельних доменів важкого або легкого ланцюга згідно з уявленням про антитіла в публікації Kabat et al., вище. При застосуванні цієї системи нумерації конкретна лінійна амінокислотна послідовність може містити меншу кількість амінокислот або додаткові амінокислоти, що відповідають укороченню або вставці в FR або HVR варіабельного домену. Наприклад, варіабельний домен важкого ланцюга може містити вставку однієї амінокислоти (залишок 52a за Кабатом) після залишку 52 в H2 і вставлені залишки (наприклад, залишки 82a, 82b і 82c і т.д. за Кабатом) після залишку 82 FR важкого ланцюга. Нумерацію залишків за Кабатом можна визначити для цього антитіла шляхом вирівнювання ділянок гомології послідовності антитіла зі "стандартною" послідовністю, пронумерованою за Кабатом.

Якщо не вказано інше, нумерація залишків в важкому ланцюзі імуноглобуліну відповідає нумерації індексу EU за Kabat et al., вище. "Індекс EU за Кебатом" відноситься до нумерації залишків антитіла IgG1 EU людини.

"Каркасні" або "FR"-залишки являють собою залишки варіабельного домену, які не є залишками HVR, згідно з визначенням в цьому документі.

"Людський консенсусний каркас" або "людський акцепторний каркас" є структурою, яка являє собою амінокислотні залишки, які найчастіше зустрічаються в відборі каркасних послідовностей V_L або Унімуноглобуліну людини. Як правило, відбір послідовностей V_L або V_H імуноглобуліну людини здійснюють з підгрупи послідовностей варіабельного домену. Як правило, підгрупа послідовностей є підгрупою, як в описано в Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ^{Ed}. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991). У випадку V_L, приклади включають в себе підгрупу, яка може бути підгрупою каппа I, каппа II, каппа III або каппа IV, як описано в Kabat et al., вище. Крім того, у випадку VH, підгрупа може бути підгрупою I, підгрупою II або підгрупою III, як описано в Kabat et al. В

альтернативному варіанті, людський консенсусний каркас може бути похідним від вищеописаних конкретних залишків, наприклад, коли людський каркасний залишок вибирають на основі його гомології з донорським каркасом шляхом вирівнювання послідовності донорського каркаса з набором різних послідовностей людського каркаса. Акцепторні людський каркас, "похідний від" каркаса імуноглобуліну людини або людського консенсусного каркаса, може мати таку ж амінокислотну послідовність або може містити раніше існуючі зміни в амінокислотній послідовності. У деяких варіантах реалізації цього винаходу кількість існуючих раніше амінокислотних змін становить 10 або менше, 9 або менше, 8 або менше, 7 або менше, 6 або менше, 5 або менше, 4 або менше, 3 або менше, або 2 або менше.

"Амінокислотна модифікація" в заданому положенні, наприклад, Fc-ділянки, відноситься до заміни або делеції вказаного залишку або вставки щонайменше одного амінокислотного залишку, суміжного із вказаним залишком. Термін "вставка, суміжна із вказаним залишком" означає вставку в межах одного-двох залишків. Вставка може бути N-кінцевою або C-кінцевою щодо вказаного залишку. Прийнятніша модифікація амінокислоти в цьому винаході являє собою заміну.

Антитіло "з дозрілою афінністю" являє собою антитіло, що містить одну або більшу кількість змін в одній або більшій кількості HVR, що обумовлює посилення афінності антитіла до антигену в порівнянні з вихідним антитілом, що не містить вказаної(их) зміни (змін). У деяких варіантах реалізації цього винаходу антитіло з дозрілою афінністю характеризується наномолярними або навіть пікомолярними значеннями афінності до антигену-мішені. Антитіла з дозрілою афінністю отримують за допомогою методик, відомих в цій галузі техніки. Наприклад, в роботі Marks et al., Bio/Technology 10: 779-783 (1992) описане дозрівання афінності шляхом перетасування V_H- і V_L-доменів. Випадковий мутагенез HVR та/або каркасних залишків описаний, наприклад, в: Barbas et al. Proc Nat. Acad. Sci. USA 91: 3809-3813 (1994); Schier et al. Gene 169: 147-155 (1995); Yelton et al. J. Immunol. 155: 1994-2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154 (7): 3310-9 (1995); і Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226: 889-896 (1992).

В цьому контексті термін "специфічно зв'язується", "специфічно розпізнається" або "специфічний для" відноситься до взаємодій, які можна виміряти і відтворити, як-от зв'язування між мішенню і антигензв'язуючим білком (як-от CAR або sdAb), який є визначальним для підтвердження факту наявності мішені при наявності гетерогенної популяції молекул, включаючи біологічні молекули. Наприклад, антигензв'язуючий білок (як-от CAR або sdAb), який специфічно зв'язує мішень (яка може бути епітопом), являє собою антигензв'язуючий білок (як-от CAR або sdAb), який зв'язує цю мішень з більшою афінністю, авідністю, легкістю та/або тривалістю, в порівнянні з іншими мішенями. У деяких варіантах реалізації цього винаходу ступінь зв'язування антигензв'язуючого білка (як-от CAR або sdAb) з незв'язаною мішенню становить менш ніж близько 10 % зв'язування антигензв'язуючого білка (як-от CAR або sdAb) з вказаною мішенню, що вимірюється, наприклад, за допомогою радіоімуноаналізу (RIA). У деяких варіантах реалізації цього винаходу антигензв'язуючий білок (як-от CAR або sdAb), який специфічно зв'язує мішень, має константу дисоціації (Kd) ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≦ 1 нМ або ≦ 0,1 нМ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антигензв'язуючий білок (як-от CAR або sdAb) специфічно зв'язує епітоп на білку, який є консервативним серед білка від різних видів. У деяких варіантах реалізації цього винаходу специфічне зв'язування може включати в себе, але не вимагає виняткового зв'язування.

Термін "специфічність" відноситься до селективного розпізнавання антигензв'язуючого білка (як-от CAR або sdAb) для конкретного епітопу антигену. Природні антитіла, наприклад, є моноспецифічними. В цьому контексті термін "мультиспецифічний" означає, що антигензв'язуючий білок (як-от CAR або sdAb) має дві або більшу кількість антигензв'язуючих ділянок, з яких щонайменше дві зв'язують інші антигени. В цьому контексті термін "біспецифічний" означає, що антигензв'язуючий білок (як-от CAR або sdAb) характеризується двома різними антигензв'язуючими специфічностями. В цьому контексті термін "моноспецифічний" CAR означає антигензв'язуючий білок (як-от CAR або sdAb), який має одну або більшу кількість ділянок зв'язування, кожна з яких зв'язує один і той же антиген.

В цьому контексті термін "валентність" означає наявність певної кількості ділянок зв'язування в антигензв'язуючому білку (як-от CAR або sdAb). Природне антитіло, наприклад, або повнорозмірне антитіло, має два зв'язуючі ділянки і є двовалентним. Таким чином, терміни "тривалентний", "чотиривалентний", "п'ятивалентний" і "шестивалентний" вказують на наявність двох ділянок зв'язування, трьох ділянок зв'язування, чотирьох ділянок зв'язування, п'яти ділянок зв'язування і шести ділянок зв'язування, відповідно, в антигензв'язуючому білку (наприклад, CAR або sdAb).

"Ефекторні функції антитіла" відносяться до біологічних видів активності, властивим Fc-ділянці (Fc-ділянка з нативною послідовністю або варіант амінокислотної послідовності Fc-ділянки) антитіла, і змінюються в залежності від ізотипу антитіла. Приклади ефекторних функцій антитіла включають в себе: зв'язування C1q і комплементзалежну цитотоксичність; зв'язування з рецептором Fc; антитілозалежну клітинно-опосередковану цитотоксичність (АЗКЦ); фагоцитоз; зниження рівня експресії рецепторів клітинної поверхні (наприклад, рецепторів В-клітини) і активацію В-клітини. "Знижена або мінімізована" ефекторна функція антитіла означає, що функція знижена щонайменше на 50 % (в альтернативному варіанті на 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %) у порівнянні з антитілом дикого типу або немодифікованим антитілом. Ефекторну функцію антитіла легко зможе визначити і виміряти звичайний фахівець в цій галузі техніки. У прийнятнішому варіанті реалізації цього винаходу впливають на ефекторні функції антитіла відносно зв'язування комплементу, функції комплемент-залежної цитотоксичності і антитілозалежної цитотоксичності. У деяких варіантах реалізації цього винаходу ефекторна функція усувається за допомогою мутації в константній ділянці, яка усуває глікозилювання, наприклад, "мутація без ефектора". В одному аспекті мутація без ефектора є мутацією N297A або DANA (D265A+N297A) в ділянці C_H2. Shields et al., J. Biol. Chem. 276 (9): 6591-6604 (2001). В альтернативному варіанті додаткові мутації, що призводять до зменшення або усунення ефекторних функції, включають в себе: K322A і L234A / L235A (LALA). В альтернативному варіанті ефекторну функцію можна зменшити або усунути за допомогою методів продукування, як-от експресія в клітинах-хазаїнах, яка при відсутності глікозилювання (наприклад, E. coli) або в результаті зміненого профілю глікозилювання є неефективною або менш ефективною при підвищенні ефекторних функції (наприклад, Shinkawa et al., J. Biol. Chem. 278 (5): 3466-3473 (2003).

"Антитілозалежна клітинно-опосередкована цитотоксичність", або АЗКЦ, відноситься до форми цитотоксичності, при якій Ig, що секретується, зв'язується з Fc-рецепторами (FcR), присутніми на деяких цитотоксичних клітинах (наприклад, клітини природні кілери (NK), нейтрофіли і макрофаги), дозволяючи цим цитотоксичним ефекторним клітинам специфічно зв'язуватися з клітиною-мішенню, що містить антиген, і згодом знищувати клітину-мішень цитотоксинами. Антитіла "озброюють" цитотоксичні клітини і є необхідними для знищення клітини-мішені за допомогою цього механізму. Первинні клітини для опосередкування АЗКЦ, NK-клітини, експресують тільки FcγRIII, тоді як моноцити експресують FcγRI, FcγRII і FcγRIII. Зведена інформація про експресію FcR на гемопоетичних клітинах приведена в Таблиці 3 на сторінці 464 публікації Ravetch і Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92 (1991). Для оцінки активності АЗКЦ молекули, що представляє інтерес, можна провести аналіз АЗКЦ in vitro, як описаний в патенті США № 5500362 або 5821337. В якості ефекторних клітин в таких аналізах можна застосовувати мононуклеарні клітини периферичної крові (МКПК) і клітини-натуральні кілери (NK). В альтернативному або додатковому варіанті активність АЗКЦ молекули, що представляє інтерес, можна оцінити in vivo, наприклад, на моделі тварини, як описано в публікації Clynes etal, PNAS USA 95: 652-656 (1998).

В цьому контексті термін "Fc-ділянка" застосовується для визначення С-кінцевої ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну, включаючи Fc-ділянки нативной послідовності і варіанти Fc-ділянок. Незважаючи на те, що межі Fc-ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну можуть варіюватися, Fc-ділянка важкого ланцюга IgG людини зазвичай визначається як розтягнута з амінокислотного залишку в положенні Cys226 або з Pro230 у напрямку до її карбоксильного кінця. С-кінцевий лізин (залишок 447 згідно системи нумерації EU) Fc-ділянки можна видалити, наприклад, під час продукування або очищення антитіла, або за допомогою рекомбінантного конструювання нуклеїнової кислоти, що кодує важкий ланцюг вказаного антитіла. Відповідно, композиція інтактних антитіл може містити популяції антитіл з віддаленими залишками K447, популяції антитіл без віддалених залишків K447 і популяції антитіл, що мають суміш антитіл із залишком K447 і без нього. Придатні Fc-ділянки з нативними послідовностями для застосування в антитілах, описаних в цьому документі, включають в себе IgG1, IgG2 (IgG2A, IgG2B), IgG3 і IgG4.

Як правило, термін "афінність зв'язування" відноситься до сили суми нековалентних взаємодій між одним ділянкою зв'язування молекули (наприклад, антитіла або CAR) та її партнером по зв'язуванню (наприклад, антигеном). Якщо не вказано інше, в цьому документі "афінність зв'язування" відноситься до афінності зв'язування, що властива молекулі, і відображає взаємодію між членами пари компонентів, що зв'язуються (наприклад, антитілом і антигеном, або CAR і антигеном), при їхньому співвідношенні 1:1. Афінність молекули X до її партнера Y, як правило, можна подати у вигляді константи дисоціації (Kd). Афінність можна виміряти за допомогою загальноприйнятих способів, відомих в цій галузі техніки, в тому числі

тих, які описані в цьому документі. Як правило, низькоафінні антитіла зв'язують антиген повільно і можуть легко дисоціювати, тоді як високоафінні антитіла, як правило, зв'язують антиген швидше і мають тенденцію залишатися зв'язаними довше. У цій галузі техніки відомі різні способи вимірювання афінності зв'язування, кожний з яких може застосовуватися для цілей цього винаходу. Конкретні ілюстративні і типові варіанти реалізації цього винаходу, пов'язані з вимірюванням афінності зв'язування, описані в цьому документі.

"Блокуюче" антитіло або "антагоністичне" антитіло являє собою таке антитіло, яке пригнічує або зменшує біологічну активність антигену, з яким воно зв'язується. У деяких варіантах реалізації цього винаходу блокуючі антитіла або антагоністичні антитіла по суті або повністю пригнічують біологічну активність антигену.

"Відсоток (%) ідентичності амінокислотної послідовності" або "гомологію" відносно послідовності пептиду, поліпептиду або антитіла визначають як відсоток амінокислотних залишків послідовності-кандидата, ідентичних амінокислотним залишкам специфічної пептидної або поліпептидної послідовності після вирівнювання послідовностей і введення гепів, якщо це необхідно для досягнення максимального відсотка ідентичності послідовностей, причому при визначенні ідентичності послідовностей консервативні заміни не враховуються. Вирівнювання амінокислотних послідовностей з метою визначення відсотка їх ідентичності можна здійснити різними способами, відомими фахівцям в цій галузі техніки, наприклад, за допомогою широко доступного програмного забезпечення, як-от програми BLAST, BLAST-2, ALIGN або MEGALIGN ™ (DNASTAR). Фахівці в цій галузі техніки можуть визначити відповідні параметри для вимірювання ступеня вирівнювання, включаючи будь-які алгоритми, необхідні для досягнення максимального вирівнювання послідовностей, що підлягають порівнянню, на повній довжині.

В цьому контексті термін "химерний антигенний рецептор" або "CAR" відноситься до генно-інженерних рецепторів, які можна застосовувати для щеплення однієї або більшої кількості антигенних специфічностей в імунні ефекторні клітини, як-от Т-клітини. Деякі CAR також відомі як "штучні рецептори Т-клітин", "химерні рецептори Т-клітин" або "химерні імунні рецептори". У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, специфічний для одного або більшої кількості антигенів (як-от пухлинні антигени), трансмембранний домен і внутрішньоклітинний сигнальний домен Т-клітин та/або інші рецептори. Термін "CAR-T" відноситься до Т-клітини, яка експресує CAR. Термін "BCMA CAR" відноситься до CAR, що має позаклітинний зв'язуючий домен, специфічний для BCMA. Термін "двоепітопний CAR" відноситься до CAR, що має позаклітинний зв'язуючий домен, специфічний для двох різних епітопів на BCMA.

"Виділена" молекула нуклеїнової кислоти, що кодує CAR або sdAb, описані в цьому документі, є молекулою нуклеїнової кислоти, яка є ідентифікованою і відділена щонайменше від однієї контамінуючої молекули нуклеїнової кислоти, з якою вона зазвичай зв'язана в середовищі, яке є середовищем її продукування. Прийнятніше, виділена нуклеїнова кислота не зв'язана з усіма компонентами, пов'язаними із середовищем продукування. Виділені молекули нуклеїнової кислоти, що кодують поліпептиди і антитіла, описані в цьому документі, перебувають у формі, що відрізняється від форми або компонування, в яких вона зустрічається в природі. Таким чином, виділені молекули нуклеїнової кислоти відрізняються від нуклеїнової кислоти, яка існує в природних умовах в клітинах, і кодує поліпептиди і антитіла, описані в цьому документі.

Термін "контрольні послідовності" відноситься до послідовностей ДНК, необхідних для експресії функціонально пов'язаної кодуючої послідовності в конкретному організмі хазяїна. Контрольні послідовності, які придатні для введення в прокаріоти, наприклад, включають в себе промотор, в деяких випадках операційну послідовність і ділянку зв'язування рибосом. Відомо, що в еукаріотичних клітинах застосовуються промотори, сигнали поліаденілювання і енхансери.

Нуклеїнова кислота є "функціонально зв'язаною", якщо вона вступає в функціональне взаємовідношення з іншою послідовністю нуклеїнової кислоти. Наприклад, ДНК препослідовності або секреторного лідера є функціонально зв'язаною з ДНК поліпептиду, якщо вона експресується як пребілок, що бере участь в секреції цього поліпептиду; промотор або енхансер функціонально зв'язаний з кодуючою послідовністю, якщо він впливає на транскрипцію цієї послідовності, або ділянка зв'язування рибосом функціонально зв'язана з кодуючою послідовністю, якщо вона розташована так, щоб оптимізувати процес трансляції. В цілому, "функціонально зв'язаний" означає, що послідовності ДНК, будучи зв'язаними, є неперервними і, у випадку наявності секреторного лідера, є неперервними і у фазі зчитування. Проте, енхансери не повинні бути неперервними. Зв'язування здійснюється шляхом лігування в зручних ділянках рестрикції. Якщо таких ділянок немає, то відповідно до придатної методики застосовуються синтетичні олігонуклеотидні адаптори або лінкери.

В цьому контексті термін "вектор" відноситься до молекули нуклеїнової кислоти, здатної забезпечувати репродукцію іншої, зв'язаної з нею нуклеїнової кислоти. Термін включає вектор, що знаходиться у вигляді нуклеїнової кислоти, яка самостійно реплікується, а також вектор, здатний проникати в геном клітини-хазяїна, в яку його вводять. Деякі вектори здатні управляти експресією нуклеїнових кислот, з якими вони перебувають у функціональному зв'язку. Такі вектори в цьому документі називають "експресуючими векторами".

В цьому контексті термін "аутологічний" призначений для позначення будь-якого матеріалу, отриманого від того ж індивідуума, якому пізніше цей матеріал буде повторно введений.

Термін "алогенний" відноситься до трансплантату, отриманого від іншого індивідуума того ж виду.

В цьому контексті термін "трансфікований" або "трансформований" або "трансдукуваний" відноситься до способу, за допомогою якого екзогенну нуклеїнову кислоту переносять або вводять в клітину-хазяїна. "Трансфікована" або "трансформована" або "трансдукована" клітина являє собою трансфіковану, трансформовану або трансдуковану екзогенну нуклеїнову кислоту. Клітина включає в себе первинну клітину суб'єкта та її потомство.

В цьому контексті визначення "клітина", "лінія клітин" і "культура клітин" застосовуються як взаємозамінні, і всі такі позначення включають в себе потомство. Таким чином, слова "трансфектанти" і "трансфіковані клітини" включають в себе первинну оригінальну клітину і отримані з неї культури, незалежно від кількості пасажів. Також зрозуміло, що все потомство не може бути точно ідентичним за вмістом ДНК через заплановані або незаплановані мутації. В об'єм цього опису входить варіант потомства, отриманий шляхом скринінгу, який володіє такою ж функцією або біологічною активністю, що і початково трансформована клітина.

Терміни "клітина-хазяїн", "лінія клітин-хазяїнів" і "культура клітин-хазяїнів" в цьому документі застосовуються як взаємозамінні і відносяться до клітин, в які введена екзогенна нуклеїнова кислота, включаючи потомство таких клітин. Клітини-хазяїни включають в себе "трансформанти" і "трансформовані клітини", які включають в себе первинно трансформовані клітини і отримане з них потомство, незалежно від числа пасажів. Потомство може не бути повністю ідентичним батьківської клітині за вмістом нуклеїнових кислот і може містити мутації. В об'єм цього опису входить мутантне отомство, отримане шляхом скринінгу або відбору, яке володіє такою ж функцією або біологічною активністю, що і початково трансформована клітина.

В цьому контексті термін "лікування" або "вплив" являє собою підхід для отримання корисних або бажаних результатів, включаючи клінічні результати. Для цілей цього винаходу корисні або бажані клінічні результати включають, але не обмежуються ними, один або більшу кількість з наступних станів: полегшення одного або більшої кількості симптомів, викликаних захворюванням, зниження ступеня тяжкості захворювання, стабілізація захворювання (наприклад, запобігання або уповільнення погіршення захворювання), запобігання або уповільнення поширення (наприклад, метастазування) захворювання, запобігання або уповільнення розвитку рецидиву захворювання, уповільнення або затримку прогресування захворювання, зменшення інтенсивності захворювання, досягнення ремісії (часткової або повної) захворювання, зменшення дози одного або більшої кількості інших лікарських засобів, необхідних для лікування захворювання, затримку прогресування захворювання, підвищення якості життя та/або продовження виживання. Термін "лікування" також відноситься до зниження вираженості патологічних наслідків раку. Способи за цим винаходом припускають один або більшу кількість з цих аспектів лікування.

В цьому контексті термін "індивідуум" або "суб'єкт" відноситься до ссавця, включаючи, але не обмежуючись ними, людину, бика, коня, представника котячих, собаку, гризуна або примата. У деяких варіантах реалізації цього винаходу індивідуум являє собою людину.

В цьому контексті термін "ефективна кількість" відноситься до кількості агента, як-от sdAb, сконструйованої імунної ефекторної клітини або їх фармацевтичної композиції, достатньої для лікування певного порушення, патологічного стану або захворювання, наприклад, з досягненням поліпшення, ослаблення, зменшення інтенсивності та/або затримки розвитку одного або більшої кількості симптомів. її То до раку, ефективна кількість включає кількість, достатню для того, щоб викликати скорочення об'єму пухлини та/або зменшити швидкість росту пухлини (наприклад, для пригнічення росту пухлини) або запобігти або затримати іншу небажану проліферацію клітин. У деяких варіантах реалізації цього винаходу ефективна кількість являє собою кількість, достатню для затримки розвитку. У деяких варіантах реалізації цього винаходу ефективна кількість являє собою кількість, достатню для попередження або затримки розвитку рецидиву. Ефективна кількість може бути введена за одне або більшу кількість введень. Ефективна кількість лікарського засобу або композиції може: (i) знижувати кількість ракових клітин; (ii) зменшувати розмір пухлини; (iii) пригнічувати, затримувати,

уповільнювати до деякої міри і, прийнятніше, зупиняти інфільтрацію ракових клітин в ериферичні органи; (iv) пригнічувати (тобто, уповільнювати до деякої міри і, прийнятніше, зупиняти) метастазування пухлини; (v) пригнічувати ріст пухлини; (vi) попереджати або затримувати виникнення та/або розвиток рецидиву пухлини; та/або (vii) полегшувати до деякої міри один або більшу кількість симптомів, асоційованих з раком.

Термін "ад'ювантні умови" відноситься до клінічної ситуації, при якій індивідуум мав рак в анамнезі, і, як правило (але не обов'язково), відповідав на терапію, яка включала, але не обмежувалася цим, хірургічне втручання (наприклад, хірургічну резекцію), променеву терапію і хіміотерапію. Однак через наявність в їхньому анамнезі раку, ці індивідууми розцінюються як такі, що мають ризик розвитку захворювання. Лікування або введення в "ад'ювантних умовах" відноситься до чергового режиму лікування. Ступінь ризику (наприклад, коли індивідуум в ад'ювантних умовах розцінюється як такий, що має "високий ризик" або "низький ризик") залежить від кількох факторів, найчастіше від ступеня тяжкості захворювання при першому лікуванні.

Термін "неоад'ювантні умови" відноситься до клінічної ситуації, при якій спосіб реалізують до первинної/кінцевої терапії.

В цьому контексті термін "затримка" розвитку раку означає відкладання, перешкоджання, уповільнення, стабілізацію та/або відстрочку розвитку захворювання. Ця затримка може бути різної тривалості за часом, в залежності від анамнезу захворювання та/або індивідуума, який отримує лікування. Як очевидно фахівцеві в цій галузі техніки, достатня або значна затримка може, по суті, включати в себе запобігання, оскільки захворювання в індивідуума не розвивається. Спосіб, який "затримує" розвиток раку, являє собою спосіб, який зменшує ймовірність розвитку захворювання в окремому часовому інтервалі та/або зменшує ступінь захворювання в окремому часовому інтервалі в порівнянні із незастосуванням способу. Як правило, такі порівняння ґрунтуються на клінічних дослідженнях з включенням статистично значущої кількості індивідуумів. Розвиток раку можна виявити за допомогою стандартних методів, включаючи, але не обмежуючись ними, комп'ютерну аксіальну томографію (CAT скан), магнітно-резонансну томографію (МРТ), ультразвукове дослідження органів черевної порожнини, тести на згортання крові, артеріографію або біопсію. Розвиток може також відноситися до прогресування раку, який спочатку може не виявлятися, і включає виникнення, рецидив і перші прояви.

Термін "фармацевтичний склад" відноситься до препарату, представленому у формі, що забезпечує ефективність біологічної активності активного інгредієнта, і не містить додаткових компонентів, що володіють неприйнятною токсичністю для суб'єкта, якому слід вводити склад. Такі склади є стерильними. "Стерильний" склад є асептичним або не містить будь-яких живих мікроорганізмів та їх спор.

В цьому контексті термін "носії" включають в себе фармацевтично прийнятні носії, допоміжні речовини або стабілізатори, які нетоксичні для клітини або ссавців, що піддаються їх впливу в застосовуваних дозах і концентраціях. Часто фізіологічно прийнятний носій являє собою водний pH-буферизуючий розчин. Приклади фізіологічно прийнятних носіїв включають в себе буферні речовини, як-от фосфат, цитрат і інші органічні кислоти; антиоксиданти, включаючи аскорбінову кислоту та метіонін; консерванти (як-от хлорид октадецилдиметилбензиламонію; хлорид гексаметонію; хлорид бензалконію; хлорид бензетонію; фенол; бутиловий або бензиловий спирт; алкілпарабени, як-от метил або пропілпарабен; катехол; резорцин; циклогексанол; 3-пентанол; і т-крезол); низькомолекулярні (містять менше 10 залишків) поліпептиди; білки, як-от сироватковий альбумін, желатин або імуноглобуліни; гідрофільні полімери, наприклад, полівінілпіролідон; амінокислоти, наприклад, гліцин, глутамін, аспарагін, аргінін або лізин; моносахариди, дисахариди та інші вуглеводи, включаючи глюкозу, манозу або декстрини; хелатуючі агенти, як-от ЕДТК; цукри, як-от сахароза, маніт, трегалоза або сорбіт; солеутворюючі протиіони, як-от натрій; металовмісні комплекси (наприклад, комплекси Zn-білок) та/або неіоногенні поверхнево-активні речовини, як-от TWEEN ™, поліетиленгліколь (ПЕГ), а також PLURONICS™ або поліетиленгліколь (ПЕГ).

Запропонований в цьому документі термін "розріджувач" означає фармацевтично прийнятний (безпечний і нетоксичний для введення людині) і придатний для приготування рідкої композиції, як-от композиція, відновлена після ліофілізації. Приклади розріджувачів включають в себе стерильну воду, бактеріостатичну воду для ін'єкцій (BWFI), pH-буферизуючий розчин (наприклад, забуферений фосфатом фізіологічний розчин), стерильний сольовий розчин, розчин Рінгера або розчин глюкози. В альтернативному варіанті реалізації цього винаходу розріджувачі можуть включати в себе водні розчини солей та/або буферів.

"Консервант" являє собою сполуку, яка може бути додана до складів, описаних в цьому документі, для зниження активності бактерій. Додавання консерванту може, наприклад, сприяти отриманню складу багаторазового застосування (багатодозового складу). Приклади потенційних консервантів включають в себе хлорид октадецилдиметилбензиламонію, хлорид гексаметонію, хлорид бензалконію (суміш хлоридів алкілбензилдиметиламонію, в яких алкіли являють собою сполуки з довгим ланцюгом) і хлорид бензетонію. Інші типи консервантів включають в себе ароматичні спирти, як-от фенол, бутил і бензиловий спирт, алкілпарабени, як-от метил або пропілпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол і т-крезол. Найкращим консервантом в цьому винаході є бензиловий спирт.

"Стабільний" склад являє собою склад, в якому білок по суті зберігає свою фізичну і хімічну стабільність і цілісність при зберіганні. Різні аналітичні методи для вимірювання стабільності білка доступні в цій галузі техніки і розглядаються в публікації Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, NY, Pubs. (1991) і Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10: 29-90 (1993). Стабільність можна виміряти при вибраній температурі протягом вибраного періоду часу. Для швидкого скринінгу, склад можна витримати при 40 °С протягом періоду часу від 2 тижнів до 1 місяця, після чого виміряти стабільність. Якщо склад зберігається при температурі 2-8 °С, як правило, він повинен бути стабільним при температурі 30 °С або 40 °С протягом щонайменше 1 місяця та/або повинен бути стабільним при температурі 2-8 °С протягом щонайменше 2 років. Якщо склад зберігається при температурі 30 °С, як правило, він повинен бути стабільним протягом щонайменше 2 років при температурі 30 °С і/або повинен бути стабільним при температурі 40 °С протягом щонайменше 6 місяців. Наприклад, ступінь агрегації під час зберігання може використовуватися як індикатор стабільності білка. Таким чином, "стабільний" склад може бути таким, в якому менше 10 %, а переважно менше 5 % білка присутні в формі єдиного скупчення в складі. В інших варіантах реалізації цього винаходу можна визначити будь-який ступінь збільшення скупчення при зберіганні складу.

"Відновлений" склад являє собою склад, який отримують шляхом розчинення ліофілізованого білка або препарату антитіла в розчиннику, в результаті чого білок диспергується по всьому об'єму. Відновлюваний склад є придатним для введення (наприклад, підшкірного введення) пацієнту, який повинен отримувати лікування із застосуванням білка, що представляє інтерес, і в деяких варіантах реалізації цього винаходу може бути таким, який є придатним для парентерального або внутрішньовенного введення.

"Ізотонічний" склад являє собою такий склад, який має по суті такий же осмотичний тиск, що і кров людини. Ізотонічні склади зазвичай мають осмотичний тиск від близько 250 до 350 мОсм. Термін "гіпотонічний" описує склад з осмотичним тиском, який є нижчим від осмотичного тиску крові людини. Відповідно, термін "гіпертонічний" застосовується для опису складу з осмотичним тиском, який є вищим від осмотичного тиску крові людини. Ізотонічність можна виміряти, наприклад, за допомогою парофазного осмометра або осмометра по точці замерзання. Склади за цим винаходом стають гіпертонічними після додавання солі та/або буфера.

Зрозуміло, що варіанти реалізації цього винаходу, описані в цьому документі, включають варіанти реалізації, "що складаються" та/або "що складаються по суті з".

В цьому документі посилання на "близько" щодо значення або параметра включає (і описує) варіанти, які спрямовані на це значення або параметр як такі. Наприклад, опис, посилаючись на "близько X", включає опис "X".

В цьому контексті посилання на "не" по відношенню до значення або параметра, як правило, означає "крім" значення або параметра. Наприклад, вираз "вказаний спосіб не застосовують для лікування раку типу X" означає, що цей спосіб не застосовують для лікування типів раку, що відрізняються від X.

В цьому документі термін "близько X-Y" має таке ж значення, що і "від близько X до близько Y".

При використанні за текстом цього документа і наведеної формули винаходу, слова в однині означають також множину, якщо з контексту явно не випливає інше.

II. Однодоменні антитіла анти-BCMA

В одному аспекті цього винаходу пропонуються виділені однодоменні антитіла (які називаються в цьому документі "анти-BCMA sdAb"), що специфічно зв'язуються з BCMA, як-от BCMA людини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb модулює активність BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є антагоністичним антитілом. Крім того, пропонуються антигензв'язуючі фрагменти, похідні від будь-якого з описаних в цьому документі анти-BCMA sdAb, і антигензв'язуючі білки, що містять будь-яке з описаних в цьому документі анти-BCMA sdAb. Типові анти-BCMA sdAb наведені в Таблиці 2 нижче.

Таблиця 2

Типові анти-BCMA sdAb.

sdAb	Тип. AA SEQ ID	Тип. NA SEQ ID	CDR1	CDR2	CDR3
269A37346	115	153	DYYAIG (SEQ ID NO: 1)	CISRSDGSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 39)	AGADCSGYLRDYEF (SEQ ID NO: 77)
269A337348	116	154	TYGMA (SEQ ID NO: 2)	SKASMNYSGRTYYADSVKG (SEQ ID NO: 40)	AGTGCSTYGCFDAQIIDY (SEQ ID NO:78)
269A37917	117	155	TFTMG (SEQ ID NO: 3)	AISLSPTLAYYAESVKG (SEQ ID NO: 41)	ADRKSVMSIRPDY (SEQ ID NO: 79)
269A37355	118	156	INAMG (SEQ ID NO: 4)	SIRGLGRTNYDDSVKG (SEQ ID NO: 42)	VYVTLLGGVNRDY (SEQ ID NO: 80)
269A37915	119	157	SIVMG (SEQ ID NO: 5)	AIMWNDGITYLQDSVKG (SEQ ID NO: 43)	ASKGRYSEYEY (SEQ ID NO: 81)
269A37936	120	158	RAVIV (SEQ ID NO: 6)	FIKPSDGTIYYIDSLKG (SEQ ID NO: 44)	ASPEDWYTDWIDWSIYR (SEQ ID NO: 82)
PCT/CN2017/096938					IN-45607/UA-NF/PCT
269A37953	121	159	SDVMG (SEQ ID NO: 7)	AIMWNDGITYLQDSVKG (SEQ ID NO: 45)	ASKGRYSEYEY (SEQ ID NO: 83)
269A37965	122	160	NDHMA (SEQ ID NO: 8)	AIDWSGRTTNYADPVEG (SEQ ID NO: 46)	VLRAWISYDNDY (SEQ ID NO: 84)
269A37972	123	161	KNTVA (SEQ ID NO: 9)	SITWDGRTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 47)	DLGKWPAGPADY (SEQ ID NO: 85)
269A37353	124	162	SHVMG (SEQ ID NO: 10)	VIGWRDISTSYADSVKG (SEQ ID NO: 48)	ARRIDAADFDS (SEQ ID NO: 86)
269A37948	125	163	TYFMA (SEQ ID NO: 11)	GIAWSGGSTAYADSVKG (SEQ ID NO: 49)	SRGIEVEEFGA (SEQ ID NO: 87)
269B005	126	164	INVMA (SEQ ID NO: 12)	AVTRDGRKSCGDSVKG (SEQ ID NO: 50)	DGWGATTLDYTYGMDY (SEQ ID NO: 88)
269B023	127	165	TFTMG (SEQ ID NO: 13)	SITWDGRSAYYAESVKG (SEQ ID NO: 51)	DRKSVMSIRPDY (SEQ ID NO: 89)
269B024	128	166	INAMG (SEQ ID NO: 14)	TITRGGSTNYGPSVKG (SEQ ID NO: 52)	ERLDGSGYGYEYD Y (SEQ ID NO: 90)
269B028	129	167	KNTVA (SEQ ID NO: 15)	SITCDGRTTYYANSVNG (SEQ ID NO: 53)	YRKSIMSIQPDY (SEQ ID NO: 91)
269B030	130	168	SIVMG (SEQ ID NO: 16)	AIMWNDGLTYLQGSVKG (SEQ ID NO: 54)	DRKSVMSIRPDY (SEQ ID NO: 92)
269B038	131	169	TFTMG (SEQ ID NO: 17)	AISLSPTLAYYAESVKG (SEQ ID NO: 55)	RRIDAADFDS (SEQ ID NO: 93)
269B054	132	170	KNTVA (SEQ ID NO: 18)	SITWDGRTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 56)	LGKWPAGPADY (SEQ ID NO: 94)
269B059	133	171	INTMD (SEQ ID NO: 19)	AISLSPTLAYYAESVKG (SEQ ID NO: 57)	DRKSVMSIRPDY (SEQ ID NO: 95)
269B060	134	172	KNTVA (SEQ ID NO: 20)	SITCDGRTTYYANSVKG (SEQ ID NO: 58)	LGKWPAGSADY (SEQ ID NO: 96)
269B069	135	173	DYWMH (SEQ ID NO: 21)	SIDTSGQTTYYADSLK G (SEQ ID NO: 59)	RYRGGTWYGMAN (SEQ ID NO: 97)
269B074	136	174	SNTMA (SEQ ID NO: 22)	STTWNGRSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 60)	LGKWPAGPADY (SEQ ID NO: 98)
269B076	137	175	TFTMG (SEQ ID NO: 23)	DISGGRTNYADSVKG (SEQ ID NO: 61)	DRKSVMSIRPDY (SEQ ID NO: 99)
269B079	138	176	VAAISL (SEQ ID NO: 24)	FTISRDNAKNTVVLQ MNSLKP (SEQ ID NO: 62)	DRKSVMSIRPDY (SEQ ID NO: 100)

Таблиця 2 (продовження)

sdAb	Тип. AA SEQ ID	Тип. NA SEQ ID	CDR1	CDR2	CDR3
269B083	139	177	KNTVA (SEQ ID NO: 25)	SITWDGRTTYYADSVKG (SEQ ID NO: 63)	TASCHLFGLGSGAFVS (SEQ ID NO: 101)
269B085	140	178	TFTMG (SEQ ID NO: 26)	AISLSPTLAYYAESVKG (SEQ ID NO: 64)	SKDRYSEYEY (SEQ ID NO: 102)
269B093	141	179	TFTMG (SEQ ID NO: 27)	AISLSPTLAYYAESVKGKG (SEQ ID NO: 65)	KNGGPVDY (SEQ ID NO: 103)
269B094	142	180	SIVMG (SEQ ID NO: 28)	AIMWNDGITYLQDSVKG (SEQ ID NO: 66)	SKGRYSEYEY (SEQ ID NO: 104)
269B104	143	181	TFTMG (SEQ ID NO: 29)	AINLSPTLTYYAESVKG (SEQ ID NO: 67)	ERKSVMAIPPDY (SEQ ID NO: 105)
269B109	144	182	TFTMG (SEQ ID NO: 30)	SITLIPTFPYYAYSVKG (SEQ ID NO: 68)	YRKYLMSILPDY (SEQ ID NO: 106)
269B110	145	183	TFTMG (SEQ ID NO: 31)	AISLSPTLAYYAESVKG (SEQ ID NO: 69)	NRNSQRVIAALSWIGM NY (SEQ ID NO: 107)
269B113	146	184	TFTMG (SEQ ID NO: 32)	AISLSPTLAYYAESVKG (SEQ ID NO: 70)	RRIDAADFDS (SEQ ID NO: 108)
269B126	147	185	TFTMG (SEQ ID NO: 33)	VIGWRDINASYADSVKG (SEQ ID NO: 71)	RRIDATDFDS (SEQ ID NO: 109)
269B129	148	186	NHVMG (SEQ ID NO: 34)	VIGWRDISTSYADSVKG (SEQ ID NO: 72)	RRIDAADFDS (SEQ ID NO: 110)
269B131	149	187	NYILA (SEQ ID NO: 35)	HISRSGGKSGYGDSVKG (SEQ ID NO: 73)	PLWYGSPTLIDY (SEQ ID NO: 111)
269B135	150	188	TFTMG (SEQ ID NO: 36)	AISLSPTLAYYAESVKG (SEQ ID NO: 74)	DRKSVMSIRPDY (SEQ ID NO: 112)
269B136	151	189	TFTMG (SEQ ID NO: 37)	AISLSPTLAYYAEPVKG (SEQ ID NO: 75)	DRKSVMSIRPDY (SEQ ID NO: 113)
269B139	152	190	NNFVMG (SEQ ID NO: 38)	AISLSPTLAYYVESVKG (SEQ ID NO: 76)	DRKSVMSIRPDY (SEQ ID NO: 114)

В-клітинний зрілий антиген (BCMA), також відомий як CD269, є представником суперсімейства рецепторів фактора некрозу пухлин, а саме TNFRSF17 (Thompson et al., J. Exp. Medicine, 192 (1): 129-135, 2000). BCMA людини практично виключно експресується в клітинах плазми і клітинах множинної мієломи (див., наприклад, Novak et al., Blood, 103 (2): 689-694, 2004; Neri et al., Clinical Cancer Research, 73 (19): 5903-5909; Felix et al., Mol. Oncology, 9 (7): 1348-58, 2015). BCMA може зв'язувати активуючий фактор В-клітин (BAFF) і ліганд, що індукує проліферацію (APRIL) (наприклад, Mackay et al., 2003 and Kalled et al., Immunological Review, 204: 43-54, 2005). BCMA може бути придатною пухлинною антигенною мішенню для імунотерапевтичних агентів при лікуванні множинної мієломи. Антитіла з високою афінністю можуть блокувати зв'язування між BCMA і його нативними лігандами BAFF і APRIL. Анти-BCMA sdAb можна застосовувати в комбінації з клітинною імунотерапію CAR-T-клітинами, наприклад, для посилення цитотоксичних ефектів, спрямованих проти пухлинних клітин.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 115. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 116. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 117. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 118. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 119. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 120. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної

послідовності SEQ ID NO: 121. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 122. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 123. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 124. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 125. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 126. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 127. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 128. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR мінокислотної послідовності SEQ ID NO: 129. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 130. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 131. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 132. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 133. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 134. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 135. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 136. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 137. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 139. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 139. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 140. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 141. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 142. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 143. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 144. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 145. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 146. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 147. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 148. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 149. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 150. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 151. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить одну, дві або всі три CDR амінокислотної послідовності SEQ ID NO: 152. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є верблюжим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, що містить щонайменше одну, щонайменше дві або всі три CDR, вибрані з (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 1-38; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 39-76; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 77-114. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є верблюжим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: a) CDR1, що характеризується щонайменше близько 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю, вибраною з SEQ ID NO: 1-38; (b) CDR2, що характеризується щонайменше близько 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю, вибраною з SEQ ID NO: 39-76; і (c) CDR3, що характеризується щонайменше близько 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю, вибраною з SEQ ID NO: 77-114. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CDR, що характеризується щонайменше близько 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), вставки або делеції відносно еталонної послідовності, але анти-BCMA sdAb, що містить цю послідовність, зберігає здатність зв'язуватися з BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що має щонайменше близько 1, 2, 3 або 4 амінокислотних замін (наприклад, консервативних замін), вставок або делецій в амінокислотній послідовності, вибраній з SEQ ID NO: 1-38; (b) CDR2, що має щонайменше близько 1, 2, 3 або 4 амінокислотних замін (наприклад, консервативних замін), вставок або делецій в амінокислотній послідовності, вибраній з SEQ ID NO: 39-76; і (c) CDR3, що має щонайменше близько 1, 2, 3 або 4 амінокислотних замін (наприклад, консервативних замін), вставок або делецій в амінокислотній послідовності, вибраній з SEQ ID NO: 77-114. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb характеризується дозрілою афінністю. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є верблюжим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 82. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 83. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність

SEQ ID NO: 46; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 84. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 88. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 89. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 90. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 91. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 92. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 94. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 95. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 97. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 98. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 99. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 100. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 101. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність

SEQ ID NO: 64; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 102. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 103. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 104. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 105. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 106. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 107. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 108. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 109. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: ПО. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 111. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 112. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 113. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується анти-BCMA sdAb, яке містить три CDR, що містять: (a) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; (b) CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76; і (c) CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 114. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є верблюжим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb містить акцепторний людський каркас, наприклад, каркас людського імуноглобуліну або людський консенсусний каркас.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb, включаючи будь-який з варіантів реалізації, описаних вище (тобто, анти-BCMA sdAb, що містить специфічну CDR1, CDR2 та/або CDR3), містить домен VhH, що характеризується щонайменше близько 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю, вибраною з SEQ ID NO: 115-152. У деяких варіантах реалізації цього винаходу V_HH, що характеризується щонайменше близько 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентичністю, містить заміни (наприклад, консервативні заміни), вставки або делеції відносно еталонної послідовності, але анти-BCMA sdAb, що містить цю послідовність, зберігає здатність зв'язуватися з BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу в цілому від 1 до 10 амінокислот замінені, вставленіта/або видалені в амінокислотній послідовності, вибраній з SEQ ID NO: 115-152. У деяких варіантах реалізації цього винаходу заміни, вставки або делеції зустрічаються в ділянках, що знаходяться за межами CDR (тобто в FR). Не обов'язково анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 115-152, включаючи в себе посттрансляційні модифікації цієї послідовності.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується виділене анти-BCMA sdAb, що містить домен V_HH, який має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 115-152. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 115-152.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу функціональні епітопи можуть бути картовані за допомогою комбінаторного аланінового сканування. У цьому процесі стратегію комбінаторного аланінового сканування можна застосовувати для ідентифікації амінокислот у білку BCMA, які необхідні для взаємодії з анти-BCMA sdAb. У деяких варіантах реалізації цього винаходу епітоп являє собою конформаційну і кристалічну структуру анти-BCMA sdAb, зв'язаного з BCMA, яке можна застосовувати для ідентифікації епітопів. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується епітоп BCMA, похідний від амінокислотної послідовності, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: 388-394. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується епітоп BCMA, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 388-394.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонуються антитіла, які конкурують з будь-яким з анти-BCMA sdAb, описаним в цьому документі, за зв'язування з BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонуються антитіла, які конкурують з анти-BCMA sdAb, описаним в цьому документі, за зв'язування з епітопом на BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується антитіло, яке зв'язується з тим же епітопом, що і анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 115-152. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується антитіло, яке специфічно зв'язується з BCMA конкурентно з анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 115-152.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу аналізи конкуренції можуть застосовуватися для ідентифікації моноклонального антитіла, яке конкурує з анти-BCMA sdAb, описаним в цьому документі, за зв'язування з BCMA. Аналізи конкуренції можуть застосовуватися для визначення того, чи зв'язують два антитіла один і той же епітоп, розпізнаючи ідентичні епітопи або епітопи, що стерично перекриваються, або одне антитіло конкурентно інгібує зв'язування іншого антитіла з антигеном. В окремих випадках реалізації цього винаходу таке конкуруюче антитіло зв'язується з одним і тим же епітопом (наприклад, епітопом BCMA, похідним від амінокислотної послідовності, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: 388-394), який зв'язується антитілом, описаним в цьому документі. Типові аналізи конкуренції включають, але не обмежуються ними, звичайні аналізи, наприклад, описані в Harlow і Lane (1988). Antibodies: A Laboratory Manual ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY). Детальний опис ілюстративних способів картування епітопу, з яким зв'язується антитіло, представлений в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols", в Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, N.J.). У деяких варіантах реалізації цього винаходу два антитіла, як повідомляється, зв'язуються з одним і тим же епітопом, якщо кожен блок зв'язує інший на 50 % або більше. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антитіло, яке конкурує з описаним в цьому документі анти-BCMA sdAb, являє собою верблюже, химерне, гуманізоване або людське антитіло. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується антитіло, яке конкурує з верблюжим, химерним, гуманізованим або людським анти-BCMA sdAb, як описано в цьому документі.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується антитіло анти-BCMA або антигензв'язуючий білок, що містить будь-який з анти-BCMA sdAb, описаних вище. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антитіло анти-BCMA є моноклональним антитілом, включаючи верблюже, химерне, гуманізоване або людське антитіло. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антитіло анти-BCMA являє собою фрагмент антитіла, наприклад, фрагмент V_HH. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антитіло анти-BCMA є повнорозмірним антитілом тільки з важком ланцюгом, що містить Fc-ділянка будь-якого класу або ізотипу антитіл, як-от IgG1 або IgG4. У деяких варіантах реалізації цього винаходу Fc-ділянка характеризується ослабленою або мінімізованою ефекторною функцією.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу антитіло анти-BCMA (як-от анти-BCMA sdAb) або антигензв'язуючий білок, відповідно до будь-якого з вищенаведених варіантів реалізації цього винаходу, може включати в себе будь-яку з ознак окремо або в комбінації, як описано в розділах 1-7 "Характеристики антитіл" нижче.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-яке з антитіл анти-BCMA (як-от анти-BCMA sdAb), описаних вище. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує анти-BCMA sdAb, при цьому нуклеїнова кислота містить послідовність, що характеризується щонайменше близько 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %,

97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю послідовності з послідовністю нуклеїнової кислоти, вибраної з групи, що складається з SEQ ID NO: 153-190. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 153-190. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується вектор (наприклад, еспресійний вектор), що містить таку нуклеїнову кислоту. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується клітина-хазяїн, що містить таку нуклеїнову кислоту. В одному варіанті реалізації цього винаходу пропонується спосіб отримання антитіла анти-BCMA, причому вказаний спосіб включає культивування клітини-хазяїна, що містить нуклеїнову кислоту, що кодує антитіло анти-BCMA, як описано вище, в умовах, що підходять для експресії антитіла анти-BCMA, і, необов'язково, вилучення антитіла анти-BCMA з клітини-хазяїна (або середовища, в якій культивують клітину-хазяїна).

Характеристики антитіл

1. Афінність антитіл

В деяких варіантах реалізації цього винаходу запропоноване в цьому документі антитіло анти-BCMA має константу дисоціації (Kd) ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ, ≤ 0,1 нМ, ≤ 0,01 нМ або ≤ 0,001 нМ (наприклад, 10^{-8} М або менше, наприклад, від 10^{-8} М до 10^{-13} М, наприклад, від 10^{-9} М до 10^{-13} М).

У деяких варіантах реалізації цього винаходу Kd вимірюють за допомогою аналізу зв'язування антигену, міченого радіоактивним ізотопом (RIA), із застосуванням Fab-версії або фрагмента V_HH антитіла, що представляє інтерес, і його антигену, як описано в наступному аналізі. Наприклад, афінність зв'язування Fab з антигеном в розчині вимірюють шляхом врівноваження Fab з мінімальною концентрацією (^{125}I) -міченого антигену в присутності серії розведень немміченого антигену з подальшим захопленням зв'язаного антигену на планшеті, вкритому антитілом анти-Fab (див., наприклад, Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881(1999)).

У деяких варіантах реалізації цього винаходу Kd вимірюють за допомогою аналізу на основі поверхневого плазмонного резонансу з використанням BIACORE®-2000 або BIACORE ®-3000 (BIAcore, Inc., Піскатауей, штат Нью-Джерсі) при 25 °C з чіпами CM5, імобілізованими антигеном при ~10 одиницях відповіді (RU). Якщо коротко, чіпи біосенсора з карбоксиметилюваним декстраном (CM5, BIACORE, Inc.) активували N-етил-N'-(3-диметиламінопропіл)-карбодиімідгідрохлоридом (EDC) і N-гідроксисукцинімідом (NHS) відповідно до інструкцій постачальника. Антиген розбавляли 10 мМ розчином ацетату натрію, pH 4,8, до 5 мкг/мл (~0,2 мкм) і вводили при швидкості потоку 5 мкл/хвилину, досягаючи близько 10 одиниць відповіді (RU) зв'язаного білка. Після введення антигену вводили 1 М розчин етаноламіну для блокування груп, які не прореагували. Для вимірювання кінетики вводять дворазові серійні розведення Fab або V_HH антитіла, що представляє інтерес (від 0,78 нМ до 500 нМ), вводять в ФСБ з 0,05 % поверхнево-активною речовиною полісорбатом-20 (TWEEN-20™) (PBST), при 25 °C при швидкості потоку приблизно 25 мкл/хв. Швидкості асоціації (k_{on}) І швидкості дисоціації (k_{off}) розраховували за допомогою простої взаємно-однозначної моделі зв'язування Ленгмюра (програмне забезпечення (BIACORE ® Evaluation, версія 3. 2) шляхом одночасної апроксимації сенсограм асоціації і дисоціації. Рівноважну константу дисоціації (Kd) розраховували як співвідношення k_{off}/k_{on} Див., наприклад, Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881 (1999). Якщо швидкість асоціації відповідно до вищеописаного аналізу поверхневого плазмонного резонансу перевищує 10^6 M^{-1} s^{-1}, то її можна визначити за допомогою методики гасіння флуоресценції, що вимірює збільшення або зменшення інтенсивності випускання флуоресценції (збудження = 295 нм; випускання = 340 нм, смуга пропускання 16 нм) при 25 °C для 20 нМ розчину антитіл проти антигену (в формі Fab) в ФСБ, pH 7,2, в присутності зростаючих концентрацій антигену, виміряних на спектрометрі, наприклад, на спектрофотометрі з пристроєм зупинки потоку (Aviv Instruments) або спектрофотометрі SLM-AMINCO ™ 8000 серії (ThermoSpectronic) зі змішувальною кюветою.

2. Фрагменти антитіл

В деяких варіантах реалізації цього винаходу запропоноване в цьому описі антитіло являє собою фрагмент антитіла. Фрагменти антитіл включають в себе, але не обмежуються перерахованим, фрагменти Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, Fv і scFv, V_HH, а також інші фрагменти, описані нижче. Огляд деяких фрагментів антитіл див. в статті Hudson et al. Nat. Med. 9: 129-134 (2003). Огляд фрагментів scFv див., наприклад, в роботі Pluckthun, в The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994); див. також WO 93/16185; і патенти США №№ 5571894 і 5587458. Опис фрагментів Fab- і $F(ab')_2$, що містять залишки епітопу зв'язування рецептора реутилізації, і які характеризуються збільшеним періодом напіввиведення in vivo, див. в патенті СІЛА № 5869046.

Діатіла являють собою фрагменти антитіл, що містять дві антигензв'язуючих ділянки, і можуть бути двовалентними або біспецифічними. Див., наприклад, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9: 129-134 (2003); і Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993). Тріатіла і тетратіла також описані в публікації Hudson et al., Nat. Med. 9: 129-134 (2003).

Фрагменти антитіл можуть бути отримані різними методами, включаючи, але не обмежуючись цим, в результаті протеолітичного розщеплення інтактного антитіла, а також продукції рекомбінантних клітин-хазяїв (наприклад, E. coli або фагів), як описано в цьому документі.

3. Химерні і гуманізовані антитіла

У деяких варіантах реалізації цього винаходу запропоноване в цьому описі антитіло являє собою химерне антитіло. Деякі химерні антитіла описані, наприклад, в патенті США № 4816567 і в роботі Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)). В одному прикладі химерне антитіло містить варіабельну ділянку нелюдського походження (наприклад, варіабельну ділянку, яка походить від представників видів верблюжих, як-от лама) і константну ділянку людини. У ще одному прикладі химерне антитіло являє собою антитіло з "переключеним класом", в якому змінений клас або підклас в порівнянні з батьківським антитілом. Термін "химерні антитіла" включає антигензв'язуючі фрагменти таких антитіл.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу химерне антитіло є гуманізованим антитілом. Як правило, антитіло нелюдського походження гуманізують з метою зниження імуногенності для людей, зберігаючи при цьому специфічність і афінність початкового антитіла нелюдського походження. Як правило, гуманізоване антитіло містить один або більшу кількість варіабельних доменів, в яких HVR, наприклад, CDR (або їх фрагменти) походять від антитіла нелюдського походження, а FR (або їх фрагменти) походять від послідовностей антитіла людини. У деяких випадках гуманізоване антитіло також містить щонайменше фрагмент константної ділянки антитіла людини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу деякі FR-залишки в гуманізованому антитілі замінюють відповідними залишками антитіла нелюдського походження {наприклад, антитіла, з якого отримані залишки HVR), наприклад, з метою відновлення або поліпшення специфічності або афінності антитіла.

Гуманізовані антитіла і способи їх отримання описані, наприклад, в публікаціях Almagro і Fransson, Front. Biosci. 13: 1619-1633 (2008), і додатково описані, наприклад, в Riechmann et al., Nature 332: 323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'lAcad. Sci. USA 86: 10029-10033 (1989); в патентах США №№ 5821337, 7527791, 6982321 та 7087409; Kashmiri et al., Methods 36: 25-34 (2005) (опис щеплення SDR (a-CDR)); Padlan, Mol. Immunol. 28: 489-498 (1991) (опис "зміни поверхні"); Dall'Acqua et al., Methods 36: 43-60 (2005) (опис "перетасування FR "); і Osbourn et al., Methods 36: 61-68 (2005), а також в Klimka et al., Br. J. Cancer, 83: 252-260 (2000) (опис підходу "спрямованої селекції" до перетасування FR).

Каркасні ділянки людини, які можна застосовувати для гуманізації, включають в себе, але не обмежуються ними: каркасні ділянки, вибрані за допомогою методики "найкращої відповідності" {див., наприклад, , Sims et al. J. Immunol. 151: 2296 (1993)); каркасні ділянки, що походять від консенсусної послідовності антитіл людини конкретної підгрупи варіабельних ділянок легкого або важкого ланцюга (див., наприклад, , Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 4285 (1992); і Presta et al. J. Immunol, 151: 2623 (1993)); зрілі (містять соматичні мутації) каркасні ділянки людини або ембріональні каркасні ділянки людини (див., наприклад, Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13: 1619-1633 (2008)); і каркасні ділянки, отримані в результаті скринінгу бібліотек FR (див., наприклад, Baca et al., J. Biol Chem. 272: 10678-10684 (1997) і Rosok et al., J. Biol Chem. 271:22611-22618(1996)).

В деяких варіантах реалізації цього винаходу sdAb є модифікованими, наприклад, гуманізованим, без зменшення нативної афінності домену до антигену і зі зниженням його імуногенності по відношенню до гетерологічних видів. Наприклад, можна визначити амінокислотні залишки варіабельного домену антитіла (V_HH) з антитіла лами, при цьому одна або більша кількість амінокислот представників сімейства верблюжих, наприклад, в каркасних ділянках, замінюються їх людським аналогом, як було виявлено в консенсусній послідовності людини, без втрати цим поліпептидом своїх типових характеристик, тобто, гуманізація не спричиняє істотного впливу на антигензв'язуючу здатність отриманого поліпептиду. Гуманізація sdAb представників сімейства верблюжих вимагає введення і мутагенезу обмеженої кількості амінокислот в одному поліпептидному ланцюзі. Це контрастує з гуманізацією scFv, Fab', (Fab') 2 і IgG, при якій потрібне введення амінокислотних змін в два ланцюги, легкий і важкий ланцюг, і збереження збірки обох ланцюгів.

Однодоменні антитіла, що містить домен V_HH, можуть бути гуманізовані з метою отримання людиноподібних послідовностей. У деяких варіантах реалізації цього винаходу FR ділянки домену V_HH, описані в цьому документі, містять щонайменше близько 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % або більше гомологій амінокислотної послідовності з каркасними ділянками V_H людини. Один типовий клас гуманізованих доменів V_HH характеризується тим, що V_HH несуть амінокислоту з групи, що складається з гліцину, аланіну, валіну, лейцину, ізолейцину, проліну, фенілаланіну, тирозину, триптофану, метіоніну, серину, треоніну, аспарагіну або глутаміну в положенні 45, як-от, наприклад, L45 і триптофану в положенні 103, згідно з нумерацією за Кабатом. Як такі, поліпептиди, що відносяться до цього класу, характеризуються високою гомологією амінокислотної послідовності з каркасними ділянками V_H людини, при цьому вказані поліпептиди можна вводити людині безпосередньо без ймовірності розвитку небажаної імунної реакції на поліпептид і без навантаження подальшої гуманізації.

Інший типовий клас гуманізованих верблюжих sdAb описаний в WO 03/035694 і містить гідрофобні залишки FR2, які, як правило, зустрічаються в звичайних антитіла людського походження або антитіл інших видів, при цьому втрата гідрофільности компенсується зарядженим залишком аргініну в положенні 103, який замінює консервативний залишок триптофану, присутній в V_H з дволанцюгових антитіл. Як такі, пептиди, що відносяться до цих двох класів, характеризуються високою гомологією амінокислотної послідовності з каркасними ділянками V_H людини, при цьому вказані пептиди можна вводити людині безпосередньо без ймовірності розвитку небажаної імунної реакції на пептид і без навантаження подальшої гуманізації.

4. Антитіла людини

У деяких варіантах реалізації цього винаходу запропоноване в цьому документі антитіло являє собою антитіло людини. Антитіла людини можна отримати, використовуючи різні методики, відомі в цій галузі техніки. Антитіла людини описані в загальних рисах в van Dijk і van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001) і Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20: 450-459 (2008). У цій галузі техніки відомі трансгенні миші або щури, здатні продукувати повністю людські sdAb. Див., наприклад, US20090307787A1, патент США № 8754287, US20150289489A1, US20100122358A1 і WO2004049794.

Антитіла людини можна отримати шляхом введення імуногену трансгенних тварин, модифікованого з метою надання йому можливості продукувати інтактні антитіла або інтактні антитіла, що містять варіабельні ділянки людини, у відповідь на введення антигену. Такі тварини зазвичай містять всі або частину локусів імуноглобулінів людини, які замінюють ендогенні локуси імуноглобулінів, або які є поза хромосомами, або інтегруються випадковим чином в хромосоми тварини. У таких трансгенних мишей ендогенні локуси імуноглобулінів зазвичай інактивують. Огляд способів отримання антитіл людини з трансгенних тварин див. в Lonberg, Nat. Biotech. 23: 1117-1125 (2005). Див. також, наприклад, патенти США №№ 6075181 і 6150584. в яких описана методика XENOMOUSE™; патент США №5770429, в якому описана методика HuMab®; патент США № 7041870, в якому описана методика K-M MOUSE®, і публікацію заявки на патент США № 2007/0061900, в якій описана методика VelociMouse®). Варіабельні ділянки людини з інтактних антитіл, що генеруються такими тваринами, можна додатково модифікувати, наприклад, шляхом об'єднання з іншою константноюділянкою людини.

Антитіла людини також можна отримати за допомогою гібридомних способів. Описано людські мієломні і мишачо-людські гетеромієломні клітинні лінії, які застосовуються для отримання людських моноклональних антитіл. (Див., наприклад, , Kozbor J. Immunol, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); і Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991).) Антитіла людини, отримані за допомогою технології на основі B-клітинної гібридоми людини, також описані в Li et al., Proc. Nail. Acad. Sci. USA, 103: 3557-3562 (2006). Додаткові способи включають в себе описані, наприклад, в патенті США 7189826 (в якому описано отримання моноклональних антитіл IgM людини з гібридомних клітинних ліній) і в публікації Ni, Xiandai Mianyixue, 26 (4): 265-268 (2006) (в якій описані повністю людські гібридоми). Методика гібридом людини (методика Trioma) також описана в Vollmers і Brandlein, Histology and Histopathology, 20 (3): 927-937 (2005), а також в Vollmers і Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27 (3): 185-91 (2005).

Антитіла людини також можна отримати шляхом виділення Fv-клону послідовностей варіабельного домену, вибраних з бібліотек фагового дисплею людського походження. Такі послідовності варіабельного домену можна потім об'єднати з бажаним константним доменом людини. Методики відбору антитіл людини з бібліотек антитіл описані нижче.

Одна методика для отримання послідовностей V_HH, направлених проти конкретного антигену або мішені, включає в себе відповідну імунізацію трансгенного ссавця, здатного експресувати антитіла з важким ланцюгом (тобто, з метою посилення імунної відповіді та/або антитіла з важким ланцюгом, направлених проти конкретного антигену або мішені), отримання придатного біологічного зразка від вказаного трансгенного ссавця, який містить (кодуючі нуклеотидні послідовності) вказані послідовності V_HH (як-от зразок крові, зразок сироватки або зразок В-клітин), з подальшою генерацією послідовностей V_HH, направлених проти вказаного антигену або мішені, починаючи із вказаного зразка, із застосуванням будь-якого придатного способу, по суті відомого в цій галузі техніки (як-от будь-який з описаних в цьому документі способів або методика гібридоми). Наприклад, з цією метою можна використовувати мишей, що експресують антитіла з важким ланцюгом, та інші способи і методики, які описані в WO 02/085945, WO 04/049794 і WO 06/008548 і Janssens et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006 Oct. 10; 103 (41): 15130-5. Наприклад, миші, що експресують антитіла з важким ланцюгом, можуть експресувати антитіла з важким ланцюгом з будь-яким придатним (одиночним) варіабельним доменом, як-от (поодинокі) варіабельні домени з природних джерел (наприклад, (поодинокі) варіабельні домени людини, (поодинокі) варіабельні домени представників сімейства верблюжих або (поодинокі) варіабельні домени акули, а також, наприклад, синтетичні або напівсинтетичні (поодинокі) варіабельні домени.

5. Антитіла, отримані з бібліотек

Антитіла за цим винаходом можна виділити шляхом скринінгу комбінаторних бібліотек на предмет антитіл, що володіють бажаною активністю або бажаними активностями. Наприклад, в цій галузі техніки відомі різні способи для створення бібліотек фагового дисплею і скринінгу таких бібліотек на антитіла, що володіють бажаними характеристиками зв'язування. Такі способи розглянуті, наприклад, в публікації Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178: 1-37 (O'Brien et al., Ed., Human Press, Totowa, N.J., 2001) і додатково описані, наприклад, в статтях McCafferty et al., Nature 348: 552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks і Bradbury, в Methods in Molecular Biology 248: 161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, N.J., 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); і Lee et al., J. Immunol. Methods 284 (1-2): 119-132 (2004). Способи конструювання бібліотек sdAb описані, наприклад, в патенті США №7371849.

У деяких способах фагових дисплеїв репертуари генів V_H і V_L окремо клонують за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і рекомбінують випадковим чином в фагових бібліотеках, які потім можна піддати скринінгу на антигензв'язуючі фаги, як описано в Winter et al., Ann. Rev. Immunol, 12: 433-455 (1994). Як правило, фаг відображає фрагменти антитіл або у вигляді одноланцюгових фрагментів Fv (scFv), або у вигляді фрагментів Fab. Бібліотеки, отримані з імунізованих джерел, містять антитіла, що володіють високою афінністю до імуногену, таким чином, необхідність конструювання гібридом відпадає. В альтернативному варіанті, можна клонувати наївний репертуар (наприклад, людини) для отримання єдиного джерела антитіл до широкого спектру чужорідних антигенів, а також аутоантигенів без імунізації, як описано в публікації Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993). Нарешті, наївні бібліотеки можна також отримати шляхом синтезу, клонуючи сегменти V-генів стовбурових клітин, які не піддавалися реаранжуванню, і застосовуючи ПЛР-праймери, що містять випадкові послідовності, для кодування гіперваріабельної ділянки CDR3 і здійснення реаранжуваняш vitro, як описано в публікації Hoogenboom і Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992). Патентні публікації, в яких описані фагові бібліотеки антитіл людини включають в себе, наприклад: патент США № 5750373 і патентні публікації США №№ 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 і 2009/0002360.

Антитіла або фрагменти антитіл, виділені з бібліотек антитіл людини, в цьому документі вважаються антитілами людини або фрагментами антитіл людини.

6. Мультиспецифічні антитіла

У деяких варіантах реалізації цього винаходу запропоноване в цьому документі антитіло являє собою мультиспецифічне антитіло, наприклад, біспецифічне антитіло. Мультиспецифічні антитіла являють собою моноклональні антитіла, які містять щонайменше дві різних ділянки специфічного зв'язування. У деяких варіантах реалізації цього винаходу одна з специфічностей зв'язування являє собою антиген, вибраний з групи, що складається з CD19, CD20, BCMA і CD38, а інша - являє собою будь-який інший антиген. У деяких варіантах реалізації цього винаходу біспецифічні антитіла можуть зв'язуватися з двома різними епітопами антигену, вибраного з групи, що складається з CD19, CD20, BCMA і CD38. Біспецифічні антитіла також

можна застосовувати для локалізації цитотоксичних агентів в ділянці клітин, що експресують антиген, вибраний з групи, що складається з CD19, CD20, BCMA і CD38.

Біспецифічні антитіла можна отримати у вигляді повнорозмірних антитіл або у вигляді фрагментів антитіл. Способи отримання мультиспецифічних антитіл включають в себе, але не обмежуються ними, рекомбінантну спільну експресію двох пар важкий ланцюг - легкий ланцюг імуноглобуліну з різною специфічністю (див. Milstein і Cuello, Nature 305: 537 (1983)), WO 93/08829 та Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655,1991), і інженерію згідно з принципом "виступ-у-западину" (див., наприклад, патент США № 5731168). Мультиспецифічні антитіла також можна отримати за рахунок конструювання електростатичних напрямних ефектів для створення гетеродимерних молекул на основі Fc антитіл (WO 2009/089004A1); перехресного зшивання двох або більшої кількості антитіл або фрагментів (див., наприклад, патент США № 4676980, і Brennan et al., Science, 229:81(1985)); застосування лейцинових "блискавок" для отримання біспецифічних антитіл (див., наприклад, , Kostelnyet al., J. Immunol, 148 (5): 1547-1553 (1992)); застосування технології "діатіл" для виготовлення біспецифічних фрагментів антитіл (див., наприклад, Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448 (1993)); і застосування одноланцюгових Fv- (sFv-) димерів (див., наприклад, , Gruber et al., J. Immunol., 152: 5368 (1994)); і отримання триспецифічних антитіл, як описано, наприклад, в Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991); і створення поліпептидів, що містять тандемні однодоменні антитіла (див., наприклад, заявку на патент США № 20110028695; і Conrath et al. J. Biol. Chem., 2001; 276 (10): 7346-50). В цей документ також включено конструювання антитіл з трьома або більшою кількістю функціональних антигензв'язуючих ділянок, включаючи "антитіла-восьминоги" (див., наприклад, US 2006 /0025576A1).

7. Варіанти антитіл

У деяких варіантах реалізації цього винаходу розглядаються варіанти амінокислотних послідовностей антитіл, запропонованих в цьому документі. Наприклад, може бути бажаним поліпшення афінності та/або інших біологічних властивостей антитіла. Варіанти амінокислотних послідовностей антитіл можна отримати шляхом введення відповідних модифікацій в послідовність нуклеїнових кислот, що кодує антитіло, або шляхом пептидного синтезу. Такі модифікації містять, наприклад, делеції та/або вставки та/або заміни залишків в амінокислотних послідовностях антитіла. Для отримання кінцевої конструкції можна внести будь-яку комбінацію делецій, вставок і замін за умови, що кінцева конструкція має бажані характеристики, наприклад, зв'язуванням з антигеном.

а) Варіанти замін, вставок і делецій

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонуються варіанти антитіл, що містять одну або більшу кількість амінокислотних замін. Ділянки, що представляють інтерес з точки зору замісного мутагенезу, включають HVR і FR. Консервативні заміни наведені в Таблиці 3 під заголовком "прийнятніші заміни". Більш суттєві зміни наведені в Таблиці 3 під заголовком "типові заміни" і детально описані нижче по відношенню до класів бічного ланцюга амінокислот. В антитіло, що представляє інтерес, можна ввести амінокислотні заміни і досліджувати продукти за допомогою скринінгу на предмет бажаної активності, наприклад, збереження/поліпшення здатності зв'язувати антиген, зниження імуногенності або поліпшення ADCC або CDC.

Таблиця 3

Амінокислотні заміни

Початковий залишок	Типові Заміни	Прийнятніші заміни
Ala (A)	Val; Leu; He	Val
Arg (R)	Lys; Gin; Asn	Lys
Asn(N)	Gin; His; Asp, Lys; Arg	Gin
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gin (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gin	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gin; Lys; Arg	Arg
He (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин	Leu

Таблиця 3 (продовження)

Початковий залишок	Типові Заміни	Прийнятніші заміни
Leu (L)	Норлейцин; He; Val; Met; Ala; Phe	He
Lys (K)	Arg; Gin; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; He	Leu
Phe(F)	Trp; Leu; Val; He; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser(S)	Thr	Thr
Thr(T)	Val; Ser	Ser
Trp(W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	lie; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин	Leu

Амінокислоти можна згрупувати за загальними властивостями бічного ланцюга:
(1) гідрофобні: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, He;
(2) нейтральні гідрофільні: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
(3) кислі: Asp, Glu;
(4) основні: His, Lys, Arg;
(5) залишки, що впливають на орієнтацію ланцюга: Gly, Pro;
(6) ароматичні: Trp, Tyr, Phe.

Неконсервативні заміни призводять до заміни представника одного з цих класів на представника іншого класу.

Один тип варіантів, отриманих шляхом заміни, включає заміну одного або більшої кількості залишків гіперваріабельної ділянки батьківського антитіла (наприклад, гуманізованого антитіла або антитіла людини). Як правило, отриманий(і) варіант(и), відібраний для подальшого дослідження, характеризується модифікаціями (наприклад, поліпшенням) певних біологічних властивостей (наприклад, підвищеною афінністю, зниженою імуногенністю) в порівнянні з батьківським антитілом та/або в значній мірі зберігає певні біологічні властивості батьківського антитіла. Типовий варіант, що отримують шляхом заміни, являє собою антитіло з дозрілою афінністю, яке легко отримати, наприклад, за допомогою методик дозрівання афінності на основі фагового дисплею, наприклад, описаних в цьому документі. Якщо коротко, один або більшу кількість залишків HVR мутують і варіантні антитіла піддають фаговому дисплею і скринінгу на предмет конкретної біологічної активності (наприклад, афінності зв'язування).

Модифікації (наприклад, заміни) можна внести в HVR, наприклад, для поліпшення афінності антитіла. Такі модифікації можна внести в "гарячі точки" HVR, тобто залишки, які кодуються кодонами, що з високою частотою піддаються мутаціям під час соматичного дозрівання (див., наприклад, Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207: 179-196 (2008)), та/або SDR (a-CDR), з тестуванням афінності зв'язування отриманого варіанту V_H або V_L. Дозрівання афінності шляхом конструювання і повторного відбору з вторинних бібліотек було описано, наприклад, в Hoogenboom et al. ^Methods in Molecular Biology 178: 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, N.J., (2001). У деяких варіантах реалізації дозрівання афінності, вносять різноманітність у варіабельні гени, вибрані для дозрівання, за допомогою одного з ряду способів (наприклад, ПЛР зниженої точності, перетасування ланцюгів або олігонуклеотид-спрямованого мутагенезу). Потім створюють вторинну бібліотеку. Після цього бібліотеку піддають скринінгу для виявлення варіантів антитіла з бажаною аффнністю. Інший спосіб для внесення різноманітності включає підходи, спрямовані на HVR, в яких кілька амінокислотних залишків HVR (наприклад, 4-6 амінокислотних залишків підряд) є рандомізованими. Залишки HVR, які беруть участь у зв'язуванні антигену, можна специфічно визначити, наприклад, за допомогою мутагенезу з аланіновим скануванням або моделюванням. При цьому мішенями часто є CDR-H3 і CDR-L3.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу заміни, вставки або делеції можуть виникати в одній або більшій кількості HVR за умови, що такі модифікації по суті не знижують здатність антитіла до зв'язування антигену. Наприклад, в HVR можна ввести консервативні модифікації (наприклад, консервативні заміни, як запропоновано в цьому документі), які по суті не знижують афінність. Такі модифікації можуть розташовуватися за межами "гарячих точок" HVR або CDR. У деяких варіантах реалізації варіантних послідовностей VhH, наведених вище, кожна HVR є або не зміненою, або містить не більше однієї, двох або трьох амінокислотних замін.

Придатний спосіб виявлення залишків або ділянок антитіла, які можуть бути мішенями для мутагенезу, називається "мутагенезом з аланіновим скануванням", як описано Cunningham nWells (1989) Science, 244: 1081-1085. В цьому способі виявляють залишок або групу залишків-мішеней (наприклад, заряджених залишків, як-от Arg, Asp, His, Lys і Glu) і заміщають їх нейтральними або негативно зарядженими амінокислотами (наприклад, аланіном або поліаланіном) щоб визначити, чи впливає це на взаємодію антитіла з антигеном. У амінокислотні положення, що демонструють функціональну чутливість до первинної заміни, можна ввести подальші заміни. В альтернативному або додатковому варіанті для виявлення точок контакту між антитілом і антигеном використовують кристалічну структуру комплексу антиген-антитіло. Такі контактні або сусідні з ними залишки можна застосовувати в якості мішеней для заміни, або вони можуть не розглядатися як кандидати для заміни. Варіанти можна піддати скринінгу, щоб визначити, чи мають вони бажані властивості.

Вставки в амінокислотну послідовність включають N- та/або C-кінцеві злиття довжиною від одного залишку до поліпептидів, що містять сто або більше залишків, а також вставки одного або безлічі амінокислотних залишків всередині послідовності. Приклади кінцевих вставок включають в себе антитіло з N-кінцевим метіонільним залишком. Інші вставні варіанти молекули антитіла включають в себе злиття N- або C-кінця антитіла з ферментом (наприклад, для ADEPT) або поліпептидом, що збільшує період напівжиття антитіла в сироватці.

b) Варіанти глікозилювання

У деяких варіантах реалізації цього винаходу запропоноване в цьому документі антитіло модифікують з метою збільшення або зменшення ступеня глікозилювання антитіла. Додавання або видалення ділянок глікозилювання в антитіло може бути з легкістю здійснено шляхом зміни амінокислотної послідовності, в результаті чого створюється або видаляється одна або більша кількість ділянок глікозилювання.

Якщо антитіло містить Fc-ділянку, можна змінити приєднаний до неї вуглевод. Нативні антитіла, які продукуються клітинами ссавців, як правило, містять розгалужений двоантенарний олігосахарид, зазвичай приєднаний за допомогою N-зв'язку до Asn297 в CH2-домені Fc-ділянки. Див., наприклад, Wright et al. TIBTECH 15: 26-32 (1997). Вказаний олігосахарид може містити різні вуглеводи, наприклад, манозу, N-ацетилглюкозамін (GlcNAc), галактозу і сіалову кислоту, а також фукозу, приєднану до GlcNAc в "стеблі" двоантенарної олігосахаридної структури. У деяких варіантах реалізації цього винаходу можна виконати модифікації олігосахариду в антитілі відповідно до цього винаходу з метою створення варіантів антитіл з певними покращеними властивостями.

В одному варіанті реалізації цього винаходу пропонуються варіанти антитіл, що містять вуглеводну структуру з недостатньою кількістю фукози, приєднаної (безпосередньо чи опосередковано) до Fc-ділянки. Наприклад, кількість фукози в такому антитілі може становити від 1 % до 80 %, від 1 % до 65 %, від 5 % до 65 % або від 20 % до 40 %. Кількість фукози визначають шляхом розрахунку середньої кількості фукози в вуглеводному ланцюгу при Asn297 по відношенню до кількості всіх вуглеводних структур, приєднаних до Asn 297 (наприклад, , складних гібридних структур з високим вмістом манози), виміряної за допомогою MALDI-TOF-мас-спектрометрії, як описано, наприклад, в WO 2008/077546. Asn297 відноситься до залишку аспарагіну, розташованому приблизно в положенні 297 в Fc-ділянки (EU-нумерація залишків Fc-ділянки); проте Asn297 також може розташовуватися на відстані приблизно ± 3 амінокислоти вище або нижче положення 297, тобто між положеннями 294 і 300, через незначну мінливість послідовності антитіл. Такі фукозильовані варіанти можуть мати поліпшену функцію АЗКЦ. Див., наприклад, публікації патентів США №№ US 2003/0157108 (Presta, L.); US 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Приклади публікацій, що стосуються "дефукозильованих" або "фукозодефіцитних" варіантів антитіла, включають в себе: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004). Приклади ліній клітин, здатних продукувати дефукозильовані антитіла, включають в себе клітини Lee 13 CHO, дефектні по фукозилюванню білка (Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249: 533-545 (1986); патентна заявка США № US 2003/0157108 A1, Presta, L; і WO 2004/056312 A1, Adams et al., особливо приклад 11), і лінії клітин з нокаутом, наприклад, клітини CHO з нокаутом гена альфа-1,6-фукозилтрансферази FUT8, (див., наприклад, Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4): 680-688 (2006); b WO2003/085107).

Крім того, пропонуються варіанти антитіл з олігосахаридами, розділеними навпіл, наприклад, в яких двоантенарний олігосахарид, приєднаний до Fc-ділянки антитіла, розділений

по GlcNAc. Такі варіанти антитіл можуть характеризуватися зниженими фукозилюванням та/або поліпшеною ADCC-функцією. Приклади таких варіантів антитіл описані, наприклад, в WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.); патенті США № 6602684 (Umana et al.); і US 2005/0123546 (Umana et al.). Крім того, пропонуються варіанти антитіл, що містять щонайменше один залишок галактози в складі олігосахариду, приєднаного до Fc-ділянки. Такі варіанти антитіл можуть володіти поліпшеною CDC-функцією. Такі варіанти антитіл описані, наприклад, в WO 1997/30087 (Patel et al.);WO 1998/58964 (Raju, S.); и WO 1999/22764 (Raju, S.).

c) Варіанти Fc-ділянки

У деяких варіантах реалізації цього винаходу в Fc-ділянка антитіла, запропонованого в цьому документі, можна ввести одну або більшу кількість амінокислотних модифікацій, тим самим отримуючи варіант Fc-ділянки. Варіант Fc-ділянки може містити послідовність Fc-ділянки людини (наприклад, Fc-ділянки IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4 людини), що містить амінокислотну модифікацію (наприклад, заміну) в одному або більшій кількості амінокислотних положень.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу розглядається варіант антитіла, що володіє деякими, але не всіма ефекторними функціями, що робить його бажаним кандидатом для варіантів застосування, при яких важливий період напіввиведення антитіла in vivo, а деякі ефекторні функції (наприклад, комплемент і АЗКЦ) не потрібні або шкідливі. Для підтвердження зниження/ослаблення КЗЦ- та/або АЗКЦ-активності можна виконати аналіз цитотоксичностіш vZ/гота/абош vivo. Наприклад, щоб переконатися у відсутності зв'язування антитіла з FcγR (і, отже, у відсутності АЗКЦ-активності) при збереженні здатності зв'язування з FcRn можна виконати аналіз зв'язування Fc-рецептора (FcR). Основні клітини, що опосередковують АЗКЦ, NK-клітини, експресують тільки Fc(RIII, в той час як моноцити експресують Fc(RI, Fc(RII і Fc(RIII. Коротка інформація про експресію FcR на гемопоетичних клітинах приведена в Таблиці 3 на сторінці 464 публікації Ravetch і Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-492 (1991). Необмежувальні приклади аналізу in vitro для оцінки АЗКЦ-активності молекули, що представляє інтерес, описані в патенті США № 5500362 (див., наприклад, Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83: 7059-7063 (1986)) і Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82: 1499-1502 (1985); 5,821,337 (див. Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med 166: 1351-1361 (1987)). В альтернативному варіанті можна використовувати аналізи, не пов'язані із застосуванням радіоактивних речовин (див., наприклад, аналіз цитотоксичності ACTI ™ для проточної цитометрії без застосування радіоактивних речовин (CellTechnology, Inc. Маунтін-В'ю, Каліфорнія; і аналіз цитотоксичності CytoTox 96® без застосування радіоактивних речовин (Promega, Медісон, Вісконсин). В якості ефекторних клітин в таких аналізах можна застосовувати мононуклеарні клітини периферичної крові (МКПК) і клітини-натуральні кілери (NK). В альтернативному або додатковому варіанті активність АЗКЦ молекули, що представляє інтерес, можна оцінити in vivo, наприклад, на моделі тварини, як описано в публікації Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95: 652-656 (1998). Крім того, можна виконати аналіз зв'язування C1q з метою підтвердження нездатності антитіла зв'язувати C1q і, отже, відсутність КЗЦ-активності. Див., наприклад, аналіз зв'язування C1q і C3c методом ІФА в WO 2006/029879 і WO 2005/100402. Для оцінки активації комплементу можна виконати аналіз КЗЦ (див., наприклад, Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202: 163 (1996); Cragg, M. S. et al., Blood 101: 1045-1052 (2003); а також Cragg, M. S. і M. J. Glennie, Blood 103: 2738-2743 (2004)). Визначення зв'язування з FcRn і кліренсу/періоду напіввиведення in vivo також можна виконати за допомогою способів, відомих в цій галузі техніки (див., наприклад, Petkova, S. B. et al. Int'l. Immunol. 18(12): 1759-1769(2006)).

Антитіла зі зниженою ефекторною функцією включають в себе антитіла із заміною одного або більшої кількості із залишків 238, 265, 269, 270, 297, 327 і 329 Fc-ділянки (патент США № 6737056). Такі мутанти Fc включають мутантів Fc із замінами в двох або більшій кількості амінокислотних положень 265, 269, 270, 297 і 327, включаючи так звані мутанти Fc "DANA" із заміною залишків 265 і 297 на аланін (патент США № 7332581).

Описано деякі варіанти антитіл з поліпшеним або зменшеним зв'язуванням з FcR. (Див., наприклад, патент США № 6737056; WO 2004/Ошибка! Закладка не определена.056312, і Shields et al., J. Biol. Chem. 9 (2): 6591-6604 (2001).)

У деяких варіантах реалізації цього винаходу варіант антитіла містить Fc-ділянку з однією або великою кількістю амінокислотних замін, які покращують АЗКЦ (антитілозалежну клітинно-опосередковану цитотоксичність), наприклад, із замінами в положеннях 298, 333 та/або 334 Fc-ділянки (EU-нумерація залишків).

У деяких варіантах реалізації цього винаходу вносять зміни в Fc-ділянку, що призводить до зміни (тобто поліпшення або зниження) зв'язування C1q та/або комплемент-залежної цитотоксичності (КЗЦ), наприклад, як описано в патенті США № 6194551, WO 99/51642 та Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000).

Антитіла зі збільшеним періодом напіввиведення і поліпшеним зв'язуванням з неонатальним рецептором Fc (FcRn), який відповідає за перенесення материнських IgG плоду (Guyer et al., J. Immunol. 117: 587 (1976) та Kim et al., J. Immunol. 24: 249 (1994)), описані в US2005/0014934A1 (Hinton et al.). Вказані антитіла містять Fc-ділянку з однією або більшою кількістю замін, які покращують зв'язування Fc-ділянки з FcRn. Такі варіанти Fc включають в себе ті, які мають заміни в одному або більшій кількості залишків Fc-ділянки: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 або 434, наприклад, заміну амінокислотного залишку 434 в Fc-ділянці (патент США №7371826).

Див. також Duncan & Winter, Nature 322: 738-40 (1988); патент США № 5648260; патент США 5624821; і WO 94/29351 щодо інших прикладів варіантів Fc-ділянки.

d) Варіанти антитіл, сконструйовані шляхом введення цистеїну

У деяких варіантах реалізації цього винаходу може бути бажаним створити антитіла, сконструйовані з використанням цистеїну, наприклад, "thioMAb", в яких один або більша кількість залишків заміщені залишками цистеїну. У конкретних варіантах реалізації цього винаходу заміщені залишки знаходяться в доступних ділянках антитіла. В результаті заміщення вказаних залишків цистеїном в доступних ділянках антитіла розташовуються здатні до реакції тіольні групи, які можна застосовувати для кон'югування антитіла з іншими фрагментами, як-от фрагменти лікарських засобів або фрагменти "лінкер-лікарський засіб", з отриманням імунокон'югата, як описано далі в цьому документі. У деяких варіантах реалізації цього винаходу цистеїном можна замінити один або більшу кількість з наступних залишків: A118 (нумерація EU) важкого ланцюга і S400 (нумерація EU) Fc-ділянки важкого ланцюга. Антитіла, сконструйовані шляхом введення цистеїну, можуть бути отримані, як описано, наприклад, в патенті США № 7521541.

e) Похідні антитіл

У деяких варіантах реалізації цього винаходу, антитіло, запропоноване в цьому документі, можна додатково модифікувати шляхом введення додаткових небілкових фрагментів, відомих в цій галузі техніки і легко доступних. Фрагменти, які можна використовувати для деривативації антитіла, включають в себе, але не обмежуються перерахованим, водорозчинні полімери. Необмежувальні приклади водорозчинних полімерів включають в себе поліетиленгліколь (ПЕГ), сополімери етиленгліколю та пропіленгліколю, карбоксиметилцелюлозу, декстран, полівініловий спирт, полівінілпіролідон, полі- 1,3-діоксолан, полі-1,3,6-триоксан, сополімер етилену/малеїнового ангідриду, поліамінокислоти (гомополімери або випадкові сополімери) і декстран або полі (n-вінілпіролідон) поліетиленгліколь, гомополімери пропіленгліколю, співполімери пропіленоксиду/ етиленоксиду, поліоксиетьовані поліоли (наприклад, гліцерин), полівініловий спирт і їх суміші, але не обмежуються ними. Перевагою пропіонового альдегіду поліетиленгліколю у виробництві є його стабільність у воді. Полімер може мати будь-яку молекулярну вагу і може бути розгалуженим або нерозгалуженим. Число полімерів, приєднаних до антитіла, може змінюватися, і, в разі приєднання більш ніж одного полімеру, вони можуть являти собою однакові або різні молекули. Як правило, число та/або тип полімерів, що застосовуються для деривативації, можна визначити з урахуванням факторів, що включають, але не обмежуючись перерахованим, конкретні властивості або функції антитіла, що підлягають поліпшенню, незалежно від того, чи буде похідне антитіла застосовуватися в терапії за певних умов та ін.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонуються кон'югати антитіла з небілковим фрагментом, які можна вибірково нагрівати за допомогою опромінення. У деяких варіантах реалізації цього винаходу небілковий фрагмент являє собою вуглецеву нанотрубку (Кат et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). Опромінення може мати будь-яку довжину хвилі, включаючи, але не обмежуючись перерахованим, довжини хвиль, які не приносять шкоди звичайним клітинам, але нагрівають небілковий фрагмент до температури, при якій клітини, що знаходяться по сусідству з небілковим фрагментом, гинуть.

Способи отримання

Антитіла (як-от sdAb), описані в цьому документі, можна отримати за допомогою будь-яких способів, відомих в цій галузі техніки, або як описано в цьому документі.

Способи отримання sdAb описані в літературі. Див., наприклад, Els Pardon et al., Nature Protocol, 2014; 9 (3): 674. Однодоменні антитіла (як-от V_HH) можна отримати за допомогою способів, відомих в цій галузі техніки, наприклад, шляхом імунізації представників виду верблюжих (наприклад, верблюда або лами) і отримання від них гібридом, або шляхом клонування бібліотеки sdAb за допомогою методів молекулярної біології, відомих в цій галузі техніки, і подальшого відбору за допомогою ІФА з окремими клонами невідібраних бібліотек або із застосуванням фагового дисплею.

Для рекомбінантної продукції sdAb, нуклеїнові кислоти, що кодують sdAb, виділяють і вставляють у вектор, який реплікується, для подальшого клонування (ампліфікація ДНК) або для експресії. ДНК, що кодує sdAb, можна легко виділити і секвенувати за допомогою традиційних способів (наприклад, із застосуванням олігонуклеотидних зондів, здатних специфічно зв'язуватися з генами, що кодують важкий і легкий ланцюги антитіла). Доступними є багато векторів. Вибір вектора частково залежить від клітини-хазяїна, яка буде застосовуватися. Як правило, прийнятніші клітини-хазяїни мають або прокаріотичне, або еукаріотичне (як правило, від ссавців) походження.

1. Поліклональні антитіла

Як правило, рівень поліклональних антитіл підвищується у тварин в результаті неодноразових підшкірних (п/к) або внутрішньочеревних (в/ч) ін'єкцій відповідного антигену і ад'юванта. Може бути корисним кон'югування відповідного антигену з білком, який є імуногенним для видів, що підлягають імунізації, наприклад, гемоціаніном фіссурели (KLH), сироватковим альбуміном, бичачим тиреоглобуліном або інгібітором трипсину соєвих бобів із застосуванням біфункціонального або деривативуючого агента, наприклад, малеімідобензоїлсульфосукцинімідного ефіру (кон'югування через залишки цистеїну), N-гідроксисукциніміду (через залишки лізину), глутарового альдегіду, бурштинового ангідриду, $SOCl_2$, або $R^1N=C=NR$, де R і R^1 є незалежно нижчими алкільними групами. Приклади ад'ювантів, які можуть застосовуватися, включають в себе повний ад'ювант Фрейнда і ад'ювант MPL-TDM (монофосфоріл ліпід А, синтетичний дикориноміколат трегалози). Протокол імунізації може бути обраний фахівцем в цій галузі техніки без зайвих експериментів.

Тварин імунізують проти антигену, імуногенних кон'югатів або похідних шляхом комбінування, наприклад, 100 мкг або 5 мкг білка або кон'югату (для кроликів або мишей відповідно) з 3 об'ємами повного ад'юванта Фрейнда, з подальшим ін'єкційним внутрішньошкірним введенням розчину в кілька ділянок. Через місяць тваринам вводять бустерну дозу, яка містить від 1/5 до 1/10 початкової кількості пептиду або кон'югату в повному ад'юванта Фрейнда шляхом підшкірної ін'єкції в кілька ділянок. Через сім-чотирнадцять днів у тварин беруть кров і аналізують сироватку на титр антитіл. Тваринам вводять бустерну дозу до досягнення фази плато для титру антитіл. Кон'югати також можна отримати в культурі рекомбінантних клітин у вигляді білкових сполук. Крім того, для посилення імунної відповіді придатні агенти для агрегації, як-от алюмокалієвий галун.

2. Моноклональні антитіла

Моноклональні антитіла отримують з популяції по суті однорідних антитіл, тобто з популяції, окремі антитіла в якій є ідентичними, за винятком можливих природних мутацій та/або посттрансляційних модифікацій (наприклад, Ізомеризації, амідування), які можуть бути присутніми в незначних кількостях. Таким чином, модифікатор "моноклональне" вказує на те, що антитіло не є сумішшю окремих антитіл.

Наприклад, моноклональні антитіла можуть бути отримані за допомогою гібридомного способу, вперше описаного Kohler et al., Nature, 256: 495 (1975), або можуть бути отримані за допомогою способів рекомбінантної ДНК (див., наприклад, патент США № 4816567).

При реалізації гібридомного способу, мишу або інший придатна тварина-хазяїн, наприклад, хом'як, імунізують, як описано вище, для виділення лімфоцитів, що продукують або здатних продукувати антитіла, які будуть специфічно зв'язувати білок, що взастосовується для імунізації. В альтернативному варіанті лімфоцити також можуть бути імунізовані in vitro. Потім лімфоцити з'єднують з клітинами мієломи із застосуванням придатного агента злиття, як-от поліетиленгліколь, для утворення гібридомної клітини (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Pp. 59-103 (Academic Press, 1986).

Агент для імунізації зазвичай включає в себе антигенний білок або його варіант злиття. Як правило, якщо бажаними є клітини людського походження, застосовують лімфоцити периферичної крові ("ЛПК"), а якщо бажаними є джерела із ссавців, що не відносяться до людини, застосовують клітини селезінки або клітини лімфатичних вузлів. Потім лімфоцити з'єднують з лінією імморталізованих клітин із застосуванням придатного агента злиття, як-от поліетиленгліколь, для утворення гібридомної клітини. Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press (1986), pp. 59-103.

Як правило, лінії імморталізованих клітин є трансформованими клітинами ссавців, зокрема, мієломними клітинами гризунів, бика і людини. Як правило, застосовують лінії клітин мієломи щура або миші. Отримані таким чином гібридомні клітини висівають і вирощують в придатному культуральному середовищі, яке, прийнятніше, містить одну або більшу кількість речовин, які пригнічують ріст або виживання незлитих батьківських клітин мієломи. Наприклад, якщо в батьківських клітинах мієломи відсутній фермент гіпоксантин гуанінфосфорибозилтрансфераза

(HGPRT або HPRT), культуральне середовище для гібридом зазвичай включатиме в себе гіпоксантин, аміноптерин і тимідин (середовище HAT), які є речовинами, що перешкоджають росту HGPRT -дефіцитних клітин.

Прийнятнішими імморталізованими клітинами мієломи є ті, які ефективно зливаються, підтримують стабільно високий рівень продукції антитіл обраними клітинами, що продукують антитіла, і чутливі до середовища, як-от середовища HAT. Серед них прийнятнішими є лінії клітин мієломи миші, наприклад, лінії клітин, отримані з пухлин миші MOPC-21 і MPC-11, доступних у Центрі розподілу клітин Salk Institute, Сан-Дієго, штат Каліфорнія, США, і клітин SP-2 (і їх похідних, наприклад, X63-Ag8-653), доступних в Американській колекції типових культур, Манассас, штат Вірджинія, США. Для продукції моноклональних антитіл людини також описані лінії клітин мієломи людини і гетеромієломи миші-людини (Kozbor, J. Immunol, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

Культуральне середовище, в якому ростуть гібридомні клітини, аналізують на предмет продукування моноклональних антитіл, направлених проти антигену. Прийнятніше, якщо специфічність зв'язування моноклональних антитіл, які продукуються гібридомними клітинами, визначають за допомогою імунопреципітації або аналізу зв'язування in vitro, як-от радіоімуноаналіз (PIA) або твердофазний імуноферментний аналіз (ІФА).

Культуральне середовище, в якому культивуються гібридомні клітини, можна аналізувати на наявність моноклональних антитіл, направлених проти антигену, що представляє інтерес. Прийнятніше, якщо афінність зв'язування і специфічність моноклонального антитіла можна визначити за допомогою імунопреципітації або аналізу зв'язування in vitro, як-от радіоімуноаналіз (PIA) або твердофазний імуноферментний аналіз (ІФА). Такі способи і аналізи відомі в цій галузі техніки. Наприклад, афінність зв'язування можна визначити за допомогою аналізу Скетчарда, описаного Munson et al., Anal. Biochem., 107: 220 (1980).

Після ідентифікації гібридомних клітин, які продукують антитіла бажаної специфічності, афінності та/або активності, клони можна субклонувати, застосовуючи процедури граничного розведення, і вирощувати за допомогою стандартних методів (Goding, вище). Придатні для цієї мети культуральні середовища включають в себе, наприклад, середовище D-MEM або середовище RPMI-1640. Крім того, гібридомні клітини можна вирощувати in vivo у вигляді пухлин у ссавців.

Моноклональні антитіла, що секретуються субклонами, відповідно відокремлюють від культурального середовища, асцитної рідини або сироватки за допомогою звичайних процедур очищення імуноглобулінів, як-от, наприклад, хроматографія на носії білок A-сефароза або хроматографія з гідроксиапатиту, гель-електрофорез, діаліз або афінна хроматографія.

Моноклональні антитіла також можна отримати за допомогою методів рекомбінантної ДНК, як описано в патенті США № 4816567, і як описано вище. ДНК, що кодує моноклональні антитіла, можна легко виділити і секвенувати за допомогою традиційних способів (наприклад, із застосуванням олігонуклеотидних зондів, здатних специфічно зв'язуватися з генами, що кодують важкий і легкий ланцюги антитіл миші). Гібридомні клітини є прийнятнішим джерелом такої ДНК. Після виділення ДНК можна помістити в експресійні вектори, які потім трансфікують в клітини-хазяїни, як-от клітини E. coli, клітини COS мавп, клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO) або клітини мієломи, що не продукують білок імуноглобуліну іншим способом, для синтезу моноклональних антитіл в таких рекомбінантних клітинах-хазяїнах. Оглядові статті про рекомбінантну експресію в бактеріях ДНК, що кодують антитіло, включають в себе Skerra et al., Opinion in Immunol, 5: 256-262 (1993) і Pliickthun, Immunol. Revs. 130: 151-188 (1992).

У подальшому варіанті реалізації цього винаходу антитіла можна виділити з фагових бібліотек антитіл, згенерованих за допомогою способів, описаних в публікації McCafferty et al., Nature, 348: 552-554 (1990). Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991) і Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991) описують виділення антитіл миші і людини, відповідно, із застосуванням фагів бібліотек. У наступних публікаціях описано отримання антитіл людини з високою афінністю (діапазон Нт) шляхом перетасування ланцюгів (Marks et al., Bio/Technology, 10: 779-783 (1992)), а також комбінаторне інфікування і рекомбінація in vivo як стратегія побудови дуже великих фагових бібліотек (Waterhouse et al., Nucl. Acids Res., 21: 2265-2266 (1993)). Таким чином, ці методи є ефективними альтернативами традиційним методам гібридоми моноклональних антитіл для виділення моноклональних антитіл.

ДНК також можна модифікувати, наприклад, шляхом заміщення гомологічних послідовностей миші кодуючою послідовністю константних доменів важкого і легкого ланцюга людини (див. в патенті США № 4816567; Morrison, et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 81: 6851 (1984)), або шляхом ковалентного приєднання до кодуючої послідовності імуноглобуліну всієї

або частини кодуючої послідовності неімуноглобулінового поліпептиду. Як правило, такі неімуноглобулінові поліпептиди є заміщеними в константних доменах антитіла або є заміщеними у варіабельних доменах однієї антигензв'язуючої ділянки антитіла з метою створення химерного двовалентного антитіла, що містить одну антигензв'язуючу ділянку, що має специфічність для антигену, та іншу антигензв'язуючу ділянку, що має специфічність для іншого антигену.

Моноклональні антитіла, описані в цьому документі, можуть бути одновалентними, отримання яких добре відомо в цій галузі техніки. Наприклад, один спосіб включає рекомбінантну експресію легкого ланцюга імуноглобуліну і модифікований важкий ланцюг. Як правило, важкий ланцюг усікається в будь-якій точці Fc-ділянки, з метою запобігання зшивання важкого ланцюга. В альтернативних варіантах відповідні залишки цистеїну можуть бути заміщені іншими амінокислотним залишком або видалені з метою запобігання зшивання. Для отримання одновалентних антитіл також придатні способи in vitro. Розщеплення антитіл для отримання їх фрагментів, зокрема Fab-фрагментів, можна виконати за допомогою звичайних методів, відомих в цій галузі техніки.

Химерні або гібридні антитіла також можна отримати in vitro за допомогою відомих методів, що застосовуються в хімії синтетичних білків, включаючи сполуки, що містять зшиваючі агенти. Наприклад, імунотоксини можуть бути сконструйовані за допомогою реакції дисульфідного обміну або шляхом утворення тіоефірного зв'язку. Приклади придатних реагентів для цієї мети включають в себе імінотіолат і метил-4-меркаптобутиримідат.

3. Рекомбінантна продукція в прокаріотичних клітинах

а) Конструкція вектора

Послідовності полінуклеотидів, що кодують антитіла за цим винаходом, можна отримати за допомогою стандартних рекомбінантних методів. Бажані послідовності полінуклеотидів можна виділити і секвенувати з клітин, що продукують антитіла, як-от гібридомних клітин. В альтернативному варіанті полінуклеотиди можна синтезувати за допомогою синтезатора нуклеотидів або методів ПЛР. Після отримання послідовності, кодуючі поліпептиди вводять в рекомбінантний вектор, здатний реплікувати і експресувати гетерологічні полінуклеотиди в організмі прокаріотичних хазяїнів. Багато векторів, які доступні і відомі в цій галузі техніки, можна застосовувати для цілей цього винаходу. Вибір придатного вектора буде залежати в основному від розміру нуклеїнових кислот, які повинні бути вставлені в вектор, і конкретної клітини-хазяїна, яка повинна бути трансформована вектором. Кожен вектор містить різні компоненти, в залежності від його функції (ампліфікація або експресія гетерологічного полінуклеотиду, або і те, йінше) і його сумісності з конкретною клітиною-хазяїном, в якій він знаходиться. Компоненти вектора, як правило, включають в себе, але не обмежуються цим: джерело початку реплікації, ген маркера відбору, промотор, ділянку зв'язування рибосом (RBS), сигнальну послідовність, вставку з гетерологічною нуклеїновою кислотою і послідовність термінації транскрипції.

У більшості випадків плазмідні вектори, що містять реплікон і контрольні послідовності, які отримані з видів, сумісних з клітиною-хазяїном, застосовують для цих хазяїнів. Вектор зазвичай несе ділянку реплікації, а також марковані послідовності, які здатні забезпечити фенотиповий відбір в трансформованих клітинах. Наприклад, E. coli зазвичай трансформують із застосуванням pBR322, плазміди, отриманої з видів E. coli. pBR.322 містить гени, що кодують стійкість до ампіциліну (Amp) і тетрацикліну (Tet) і, таким чином, забезпечує простий спосіб ідентифікації трансформованих клітин. pBR322, її похідні або інші мікробні плазміди або бактеріофаг також можуть містити або бути модифікованими, щоб утримувати промотори, які можуть використовуватися мікробним організмом для експресії ендогенних білків. Приклади похідних pBR322, що застосовуються для експресії конкретних антитіл, докладно описані в публікації Carter et al., в патенті США № 5648237.

Крім того, вектори фага, що містять реплікон і контрольні послідовності, які сумісні з мікроорганізмом-хазяїном, можуть застосовуватися в якості трансформуючих векторів для цих хазяїнів. Наприклад, бактеріофаг, як-от GEM™-11, можна застосовувати при створенні рекомбінантного вектора, який може застосовуватися для трансформації сприйнятливих клітин-хазяїнів, як-от E. coli LE392.

Експресійний вектор згідно з цим винаходом може містити дві або більшу кількість пар "промотор-цистрон", що кодують кожний з поліпептидних компонентів. Промотор являє собою регуляторну послідовність, яка не транслюється і розташована проти ходу транскрипції (5') до цистрона, який модулює його експресію. Як правило, прокаріотичні промотори діляться на два класи: промотори, що піддаються індукції, та конститутивні промотори. Промотор, що піддається індукції, є промотором, який обумовлює підвищення рівнів транскрипції цистрона під

своїм контролем у відповідь на зміни умов культивування, наприклад, наявності або відсутності поживної речовини або зміни температури.

Відома велика кількість промоторів, які розпізнаються різними потенційними клітинами-хазяїнами. Вибраний промотор може бути функціонально пов'язаний з цистронною ДНК, що кодує легкий або важкий ланцюг, шляхом видалення промотора з початкової ДНК за допомогою розщеплення рестрикційним ферментом і введенням виділеної промоторної послідовності у вектор за цим винаходом. Як нативну промоторну послідовність, так і безліч гетерологічних промоторів можна застосовувати для прямої ампліфікації та/або експресії генів-мішеней. У деяких варіантах реалізації цього винаходу застосовують гетерологічні промотори, оскільки вони, як правило, забезпечують більш високий рівень транскрипції і отримання більшої кількості експресованого гену-мішені в порівнянні з промотором нативного поліпептиду-мішені.

Промотори, придатні для застосування з прокаріотичними хазяїнами, включають в себе промотор PhoA, системи промоторів галактамази і лактози, систему промоторів триптофану (trp) і гібридні промотори, як-от промотор tac або trc. Однак придатні й інші промотори, які є функціональними в бактеріях (наприклад, інші відомі бактеріальні або фагові промотори). їхні послідовності нуклеїнових кислот опубліковані в літературі, що дозволяє кваліфікованому фахівцю оперативно лігувати їх з цистронами, що кодують цільові легкі і важкі ланцюги (Siebenlist et al. (1980) Cell 20: 269) за допомогою лінкерів або адаптерів для забезпечення будь-яких необхідних ділянок рестрикції.

В одному аспекті кожний цистрон в рекомбінантному векторі містить компонент сигнальної послідовності секреції, який направляє транслокацію експресованих поліпептидів через мембрану. У більшості випадків сигнальна послідовність може бути компонентом вектора або може бути частиною ДНК поліпептиду-мішені, яка вводиться у вектор. Сигнальная послідовність, вибрана для цілей цього винаходу, повинна бути розпізнана і оброблена (тобто, розщеплена сигнальною пептидазою) клітиною-хазяїном. Для прокаріотів клітин-хазяїнів, що не розпізнають і не обробляють сигнальні послідовності, нативні для гетерологічних поліпептидів, сигнальна послідовність заміщається прокаріотичною сигнальною послідовністю, вибраною наприклад, з групи, що складається з лужної фосфатази, пеніцилінази, lpp або лідерів термостабильного ентеротоксину II (STII), LamB, PhoE, PelB, OmpA і MBP. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сигнальні послідовності, що застосовуються в обох цистронах системи експресії, являють собою сигнальні послідовності STII або їх варіанти.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу продукція антитіл відповідно до цього винаходу може відбуватися в цитоплазмі клітини-хазяїна і, отже, не вимагає наявності сигнальних послідовностей секреції в кожному цистроні. У деяких варіантах реалізації цього винаходу поліпептидні компоненти, як-от поліпептид, що кодує домен V_H першої антигензв'язуючої частини, в деяких випадках злитої з другою антигензв'язуючою частиною, і поліпептид, що кодує домен V_L першої антигензв'язуючої частини, в деяких випадках злитої з другою антигензв'язуючою частиною, експресують, надають їм складчасту структуру і збирають, тим самим отримуючи функціональні антитіла в цитоплазмі. Окремі штами хазяїна (наприклад, штами E. coli. trxB$^-$) забезпечують стан цитоплазми, який є сприятливим для утворення дисульфідних зв'язків, що дозволяє правильно надавати складчасту структуру і збирати експресовані білкові субодиниці. Proba and Pluckthun Gene, 159: 203 (1995).

В цьому винаході пропонується система експресії, в якій кількісне співвідношення експресованих поліпептидних компонентів може модулюватися, щоб максимізувати кількість отриманих правильно зібраних антитіл, що секретуються, за цим винаходом. Таке модулювання виконується щонайменше частково шляхом одночасного модулювання сили трансляції для поліпептидних компонентів. Один спосіб модулювання сили трансляції описаний Simmons et al., в патенті США № 5840523. У вказаному способі застосовуються варіанти ділянки ініціації трансляції (TIR) в цистроні. Для цієї TIR може бути створена серія варіантів послідовності амінокислот або нуклеїнових кислот з діапазоном значень сили трансляції, що забезпечує простий спосіб корекції цього фактора для бажаного рівня експресії конкретного ланцюга. Варіанти TIR можуть бути отримані за допомогою звичайних методів мутагенезу, що призводить до змін кодонів, які можуть змінювати амінокислотну послідовність, хоча прийнятнішими є мовчазні зміни в послідовності нуклеїнових кислот. Зміни в TIR можуть включати в себе, наприклад, зміни в кількості та відстані між послідовностями Shine-Dalgarno поряд зі змінами в сигнальній послідовності. Одним із способів генерації мутантних сигнальних послідовностей є створення "банку кодонів" на початку кодуючої послідовності, який не змінює амінокислотну послідовність сигнальної послідовності (тобто, зміни є мовчазними). Це може бути досягнуто шляхом зміни третього нуклеотидного положення кожного кодону; крім того, деякі амінокислоти, як-от лейцин, серин і аргінін, мають кілька перших і других положень, які можуть ускладнити

процес створення банку. Цей спосіб мутагенезу докладно описаний в публікації Yansura et al. (1992) METHODS: A Companion to Methods in Enzymol. 4: 151-158.

Прийнятніше, якщо набір векторів генерується з діапазаном значень сили TIR для кожного цистрону в ній. Цей обмежений набір забезпечує порівняння рівнів експресії кожного ланцюга, а також кількість бажаних білкових продуктів при різних комбінаціях значень сили TIR. Значення сили TIR можна проаналізувати шляхом кількісного визначення рівня експресії репортерного гену, як описано детально в Simmons et al., в патенті США № 5840523. На підставі порівняння сили трансляції бажані індивідуальні TIR вибирають для об'єднання в конструкціях експресійного вектора за цим винаходом.

b) Прокаріотичні клітини-хазяїни.

Прокаріотичні клітини-хазяїни, придатні для експресії антитіл за цим винаходом, включають в себе архабактерії і еубактерії, як-от грамнегативні або грампозитивні організми. Приклади придатних бактерій включають в себеEscherichia (наприклад, E. coїї), Bacilli (наприклад, B. subtilis), Enterobacteria, Pseudomonas species (наприклад, P. aeruginosa), Salmonella typhimurium, Serratia marcescans, Klebsiella, Proteus, Shigella, Rhizobia, Vitreoscilla абоParacocccш. У деяких варіантах реалізації цього винаходу застосовують грамнегативні клітини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу клітини E. coli застосовують в якості хазяїнів у цьому винаході. Приклади штамів E. coli включають в себе штам W3110 (Bachmann, Cellular and Molecular Biology, Vol. 2 (Washington, D. C: American Society for Microbiology, 1987), pp. 1190-1219; № депонування в ATCC 27325) та їх похідні, включаючи штам 33D3, що має генотип W3110 AfhuA (AtonA) ptr3 lac Iq lacL8 AompT A (nmpc-fepE) degP41 kan^R (див. в патенті США № 5639635). Також є придатними інші штами та їх похідні, як-от E. coli 294 (ATCC 31446), E. coli B, E. coli 1776 (ATCC 31537) і E. coli RV308 (ATCC 31608). Ці приклади мають скоріше ілюстративний, ніж обмежувальний характер. Способи конструювання похідних будь-якої з вищезазначених бактерій, що мають певні генотипи, відомі в цій галузі техніки і описані, наприклад, в публікації Bass et al., Proteins, 8: 309-314 (1990). Як правило, необхідно вибирати відповідні бактерії з урахуванням відтворюваності реплікону в клітинах бактерії. Наприклад, види E. coli, Serratiaабо Salmonella можна відповідним чином застосовувати в якості клітин-хазяїнів, коли для доставки реплікону застосовують добре відомі плазміди, як-от pBR322, pBR325, pACYC177 або pKN410.

Як правило, клітина-хазяїн повинна виділяти мінімальні кількості протеолітичних ферментів, при цьому в клітинну культуру можуть бути бажано включені додаткові інгібітори протеази.

c) Продукція білків

Клітини–хазяїни трансформують за допомогою вищеописаних експресійних векторів і культивують в звичайних поживних середовищах, модифікованих, якщо необхідно, для індукування промоторів, відбору трансформантів або ампліфікації генів, що кодують бажані послідовності. Трансформація означає введення ДНК в прокаріотичну клітину-хазяїна, для того, щоб ДНК мала можливість реплікуватися або як позахромосомний елемент, або за допомогою хромосомного інтегратора. Залежно від клітини-хазяїна, яка застосовується, трансформація виконується за допомогою стандартних методів, придатних для таких клітин. Обробку кальцієм із застосуванням хлориду кальцію, як правило, проводять для бактеріальних клітин, які містять суттєві бар'єри клітинної стінки. В іншому способі трансформації застосовують поліетиленгліколь/ДМСО. Ще одним способом, що застосовується, є електропорація.

Прокаріотичні клітини, що застосовуються для отримання антитіл за цим винаходом, вирощують в середовищах, відомих в цій галузі техніки і придатних для культивування обраних клітин-хазяїнів. Приклади придатних середовищ включають в себе бульйон Луріа (LB) з необхідними поживними добавками. У деяких варіантах реалізації цього винаходу середовище також містить селективний агент, вибраний на основі конструкції експресійного вектора, для вибіркового забезпечення росту прокаріотичних клітин, що містять експресійний вектор. Наприклад, ампіцилін додають в середовище для росту клітин, що експресують ген резистентності до ампіциліну.

Будь-які необхідні добавки, крім джерел вуглецю, азоту і неорганічних фосфатів, також можуть бути включені у відповідні концентрації, введені окремо або у вигляді суміші з іншою добавкою або середовищем, наприклад, комплексне джерело азоту. У деяких випадках культуральне середовище може містити один або більшу кількість відновлювальних агентів, вибраних з групи, що складається з глутатіону, цистеїну, цистаміу, тіогліколяту, дитіоеритриту і дитіотреїтолу.

Прокаріотичні клітини-хазяїни культивують при відповідних температурах. Для росту E. coli, наприклад, прийнятніша температура коливається від близько 20 °C до близько 39 °C, більш прийнятніше від близько 25 °C до близько 37 °C, ще більш прийнятніше становить близько 30 °C. Показник pH середовища може бути будь-яким показником pH в межах від близько 5 до

близько 9, в залежності, головним чином, від організму-хазяїна. Для E. coli, прийнятніше, щоб pH становив від близько 6,8 до близько 7,4, а більш прийнятніше - близько 7,0.

Якщо, промотор, який піддається індукції, застосовується в експресійному векторі за цим винаходом, експресія білка активується в умовах, придатних для активації промотора. В одному аспекті цього винаходу PhoA-промотори застосовують для контролю транскрипції поліпептидів. Відповідно, трансформовані клітини-хазяїни культивують в фосфатно-обмежувальному середовищі для індукування. Прийнятніше, якщо фосфатно-обмежувальне середовище являє собою середовище C. R. A. P (див., наприклад, Simmons et al., J. Immunol. Methods (2002), 263: 133-147). Як відомо в цій галузі техніки, згідно застосовуваної векторної конструкції, можна застосовувати безліч інших індукторів.

Експресовані антитіла за цим винаходом секретуються в периплазму клітин-хазяїнів і вилучаються з неї. Вилучення білка зазвичай передбачає руйнування мікроорганізму, як правило, за допомогою таких способів, як осмотичний шок, обробка ультразвуком або лізис. Відразу після руйнування клітин, клітинний дебрис або цілі клітини можна отримати за допомогою центрифугування або фільтрації. Білки можна додатково очистити, наприклад, за допомогою афінної хроматографії зі смолою. В альтернативному варіанті білки можна переносити в культуральне середовище і виділяти з нього. Клітини можна видаляти з культури, а супернатант культури - фільтрувати і концентрувати для подальшого очищення отриманих білків. Експресовані поліпептиди можна додатково виділити та ідентифікувати за допомогою загальновідомих способів, як-от електрофорез в поліакриламідному гелі (PAGE) і аналіз вестерн-блоттингу.

В альтернативному варіанті, білок продукують у великій кількості за допомогою процесу ферментації. Для продукції рекомбінантних білків доступні різні великомасштабні процедури ферментації з періодичним підживленням. Великомасштабні процеси ферментації характеризуються ємністю щонайменше 1000 літрів, прийнятніше від 1000 до 100 000 літрів. Ці ферментери оснащені лопатевими мішалками для розподілу кисню і поживних речовин, особливо глюкози (прийнятніше джерело вуглецю/енергії). Як правило, маломасштабний процес ферментації передбачає ферментацію в ферментері, об'єм якого не перевищує близько 100 літрів, а може складати від близько 1 літра до близько 100 літрів.

Під час процесу ферментації індукцію експресії білка зазвичай починають після вирощування клітин у відповідних умовах до бажаної густини, наприклад, зі значенням OD550 в діапазоні близько 180-220, при якому клітини знаходяться в ранній стаціонарній фазі. Як відомо в цій галузі техніки і описано вище, згідно застосовуваної векторної конструкції, можна застосовувати безліч індукторів. Клітини можна вирощувати протягом більш коротких періодів перед індукуванням. Як правило, клітини індукують протягом близько 12-50 годин, хоча період часу індукування може бути довший або коротший.

З метою збільшення кількості та підвищення якості продукованих антитіл за цим винаходом, можна модифікувати різні умови ферментації. Наприклад, щоб поліпшити правильну збірку і складання поліпептидів, що секретуються, для спільного трансформування прокаріотичних клітин-хазяїнів можна застосовувати додаткові вектори, які надмірно експресують білки-шаперони, як-от білки Dsb (DsbA, DsbB, DsbC, DsbD і DsbG) або FkpA (пептидилпроліл-цис, транс-ізомераза з шапероновою активністю). Продемонстровано, що білки-шаперони сприяють правильному складанню і розчинності гетерологічних білків, що продукуються в бактеріальних клітинах-хазяїнах. Chen et al. (1999) JBio Chem 274: 19601-19605; Georgiou et al., патент США № 6083715; Georgiou et al., патент США № 6027888; Bothmann і Pluckthun (2000) J.Biol. Chem. 275: 17100-17105; Ramm і Pluckthun (2000) J. Biol. Chem. 275: 17106-17113; Arie et al. (2001) Mol. Microbiol. 39: 199-210.

Щоб звести до мінімуму протеоліз експресованих гетерологічних білків (особливо тих, які є протеолітично чутливими), для цього винаходу можна застосовувати деякі штами клітин-хазяїнів з дефіцитом протеолітичних ферментів. Наприклад, штами клітин-хазяїнів можна модифікувати для здійснення генетичної (их) мутації (й) в генах, що кодують відомі бактеріальні протеази, як-от протеаза III, OmpT, DegP, Tsp, протеаза I, протеаза Mi, протеаза V, протеаза VI і їх комбінації. Деякі протеазодефіцитні штами E. coli доступні і описані, наприклад, в Joly et al. (1998), вище; Georgiou et al., в патенті США № 5264365; Georgiou et al., в патенті США № 5508192; Hara et al., Microbial Drug Resistance, 2: 63-72 (1996).

Штами E. coli з дефіцитом протеолітичних ферментів і трансформовані плазмідами, що надмірно експресують один або більшу кількість шаперонових білків, можна застосовувати в якості клітин-хазяїнів в системі експресії, що кодує антитіла за цим винаходом.

(I) Очищення білка

Отримані антитіла додатково очищають для отримання препаратів, які по суті є гомогенними для подальшого аналізу і застосування. Для очищення білка можна застосовувати стандартні способи, відомі в цій галузі техніки. Наступні процедури є прикладами придатних процедур очищення: фракціонування на імуноафінних або іонообмінних колонках, осадження етанолом, ВЕРХ з оберненою фазою, хроматографія на діоксиді кремнію або на катіонообмінній смолі, як-от DEAE, хроматофокусування, ДСН-ПААГ-електрофорез, осадження з сульфатом амонію і гель-фільтрація із застосуванням, наприклад, Sephadex G-75.

В одному аспекті білок А, імобілізований на твердій фазі, застосовують для імуноафінного очищення антитіл, що містять Fc-ділянку за цим винаходом. Білок А являє собою білок клітинної стінки 41kD з Staphylococcus aureus, який зв'язується з Fc-ділянкою антитіл з високою афінністю. Lindmark et al (1983) J. Immunol. Meth. 62: 1-13. Прийнятніше, якщо тверда фаза, до якої імобілізований білок А, являє собою колонку, що містить поверхню скла або діоксиду кремнію, більш прийнятніше - контрольовану колонку з пористого скла або колонку з кремнієвою кислотою. У деяких випадках колонку покривали реагентом, як-от гліцерин, з метою запобігання неспецифічної адгезії забруднюючих речовин. Потім тверду фазу промивали для видалення домішок, неспецифічно зв'язаних з твердою фазою. Нарешті, антитіла, що представляють інтерес, вилучали з твердої фази шляхом елюювання.

4. Рекомбінантна продукція в прокаріотичних клітинах

При еукаріотичній експресії компоненти вектора, як правило, включають в себе, але не обмежуються ними, один або більшу кількість з наступних елементів: сигнальну послідовність, джерело початку реплікації, один або більшу кількість маркерних генів і енхансерний елемент, промотор і послідовність термінації транскрипції.

a) Компонент сигнальної послідовності

Вектор для застосування в еукаріотичном хазяїні може також містити вставку, яка кодує сигнальну послідовність або інший поліпептид, що має специфічний ділянку розщеплення на N-кінці зрілого білка або поліпептиду. Прийнятніше, якщо вибрана гетерологічна сигнальна послідовність є такою, яка розпізнається і обробляється (тобто, розщеплюється сигнальною пептидазою) клітиною-хазяїном. Для експресії клітин ссавців доступні сигнальні послідовності ссавців, а також вірусні секреторні лідери, наприклад, сигнал gD простого герпесу.

ДНК такої ділянки попередника лігують в рамці зчитування з ДНК, що кодує антитіла за цим винаходом.

b) Джерело початку реплікації

Як правило, необхідності в джерелі початку реплікації для експресійних векторів ссавців немає (як правило, джерело початку реплікації SV40 може застосовуватися тільки тому, що воно містить ранній промотор).

c) Компонент гену відбору

Експресійні і клонуючі вектори можуть містити ген відбору, який також називається маркером, що піддається селекції. Типові гени відбору кодують білки, які (a) надають стійкість до антибіотиків або інших токсинів, наприклад, ампіциліну, неоміцину, метотрексату або тетрацикліну, (b) доповнюють ауксотрофні дефіцити або (в) постачають критичні важливі поживні речовини, недоступні зі складних середовищ, наприклад, ген, що кодує D-аланінову рацемазу для Bacilli.

В одному прикладі в схемах відбору застосовують препарат для зупинки росту клітини-хазяїна. Ті клітини, які успішно трансформуються гетерологічним геном, продукують білок, що надає стійкість до препаратів, і, таким чином, виживають при режимі відбору. У прикладах такого домінуючого відбору застосовують такі препарати, як неоміцин, мікофенольну кислоту і гігроміцін.

Іншим прикладом придатних маркерів, що піддаються селекції, для клітин ссавців є такі маркери, які дозволяють ідентифікувати клітини, здатні приймати нуклеїнову кислоту, що кодує антитіла за цим винаходом, як-от DHFR, тимідинкіназа, металотіонеїн-I і -II, прийнятніше гени металотіонеїнів примата, аденозиндезаміназа, орнітиндекарбоксилаза і т. д.

Наприклад, клітини, трансформовані геном відбору DHFR, спочатку ідентифікують шляхом культивування всіх трансформантів в культуральному середовищі, яке містить метотрексат (Mtx), конкурентний антагоніст DHFR. Відповідна клітина-хазяїн, в разі застосування DHFR дикого типу, являє собою лінію клітин яєчника китайського хом'ячка (CHO) з дефіцитом активності DHFR (наприклад, ATCC CRL-9096).

В альтернативному варіанті клітини-хазяїни (зокрема, хазяїни дикого типу, які містять ендогенну DHFR), трансформовані або ко-трансформовані поліпептид-кодуючими послідовностями ДНК, білок DHFR дикого типу та інший маркер, що піддається селекції, як-от аміноглікозид 3'-фосфотрансфераза (APH), можна вибрати вирощування клітин в середовищі,

що містить селективний агент для маркера, що піддається селекції, як-от аміноглікозидний антибіотик, наприклад, канаміцин, неоміцин або G418. Див. в патенті США № 4965199.

d) Компонент промотора

Як правило, експресійні і клонуючі вектори містять промотор, який розпізнається організмом-хазяїном і функціонально пов'язаний з нуклеїновою кислотою, що кодує бажані поліпептидні послідовності. Практично всі еукаріотичні гени мають АТ-збагачену ділянку, розташовану на відстані близько 25-30 пар основ проти ходу транскрипції від ділянки, де ініціюється транскрипція. Інша послідовність, розташована на відстані близько 70-80 пар основ проти ходу транскрипції від початку транскрипції багатьох генів, являє собою ділянку CNCAAT, де N може бути будь-яким нуклеотидом. 3^{i}-кінець більшості еукаріот являє собою послідовність AATAAA, яка може бути сигналом для додавання полі-А-хвоста до 3'-кінця кодуючої послідовності. Всі ці послідовності можна вставити в еукаріотичні експресійні вектори.

Інші промотори, придатні для застосування з прокаріотичними хазяїнами, включають в себе промотор PhoA, системи промоторів галактамази і лактози, промотор лужної фосфатази, систему промоторів триптофану (trp) і гібридні промотори, як-от промотор tac. Однак придатні й інші відомі бактеріальні промотори. Промотори для застосування в бактеріальних системах також будуть містити послідовність Shine-Dalgarno (S.D.), функціонально пов'язану з ДНК, що кодує антитіла.

Транскрипцію поліпептиду з векторів в клітинах-хазяїнах ссавців контролюють, наприклад, за допомогою промоторів, отриманих з геномів вірусів, як-от вірус поліоми, вірус віспи курей, аденовірус (наприклад, аденовірус 2), вірус папіломи великої рогатої худоби, вірус саркоми птахів, цитомегаловірус, ретровірус, вірус гепатиту В і, найбільш прийнятно, вірус мавп 40 (SV40), з гетерологічних промоторів ссавців, наприклад, промотора актину або промотора імуноглобуліну, з промоторів білків теплового шоку, за умови, що такі промотори сумісні з системами клітин-хазяїнів.

Ранні та пізні промотори вірусу SV40 зазвичай отримують у вигляді рестрикційного фрагмента SV40, який також містить вірусне джерело початку реплікації SV40. Безпосередній ранній промотор цитомегаловірусу людини зазвичай отримують у вигляді рестрикційного фрагмента HindIII E. Система для експресії ДНК у хазяїнів ссавців із застосуванням вірусу папіломи великої рогатої худоби у вигляді вектора описана в патенті США № 4419446. Модифікація цієї системи описана в патенті США № 4601978. Див. також Reyes et al., Nature 297: 598-601 (1982) щодо експресії кДНК інтерферону людини в клітинах миші під контролем промотора тимідин-кінази з вірусу простого герпесу. В альтернативному варіанті в якості промотора можна застосовувати довгий кінцевий повтор вірусу саркоми Рауса.

e) Компонент елемента енхансера

Транскрипцію ДНК, що кодує антитіла за цим винаходом, у вищих еукаріот, часто підвищують шляхом введення енхансерної послідовності у вектор. На сьогоднішній день відомо багато енхансерних послідовностей з генів ссавців (глобін, еластаза, альбумін, α-фетопротеїн та інсулін). Однак, як правило, можна застосовувати енхансер від вірусної еукаріотичної клітини. Приклади включають в себе енхансер SV40 на "пізній" стороні точки початку реплікації (100-270 п.о.), цитомегаловірусний енхансер раннього промотора, поліомавірусний енхансер на "пізній" стороні точки початку реплікації і аденовірусні енхансери. Див. також публікацію Yaniv, Nature 297: 17-18 (1982) щодо енхансерних елементів для активації еукаріотичних промоторів. Енхансер може бути сплайсований у вектор в положенні 5' або 3' в послідовність, що кодує поліпептид, але прийнятніше, якщо він розташований на ділянці 5' від промотора.

f) Компонент термінації транскрипції

Експресійні вектори, що застосовуються в клітинах-хазяїнах (дріжджі, гриби, комахи, рослини, тварини, людські або зародкові клітини з інших багатоклітинних організмів) також будуть містити послідовності, необхідні для термінації транскрипції і для стабілізації мРНК. Такі послідовності зазвичай доступні з 5'- і, іноді, 3'-нетрансльованих ділянок еукаріотичних або вірусних ДНК або кДНК. Ці ділянки містять нуклеотидні сегменти, що транскрибуються у вигляді поліаденільованих фрагментів в нетрансльованій частині мРНК, що кодує поліпептид. Одним з придатних компонентів термінації транскрипції є ділянка поліаденілювання гормону росту великої рогатої худоби. Див. публікацію WO94/11026 і описаний в ній еспресійний вектор.

g) Відбір і трансформація клітин-хазяїнів

Придатні клітини-хазяїни для клонування або експресії ДНК в описаних в цьому документі векторах включають в себе вищі еукаріотні клітини, описані в цьому документі, включаючи клітини-хазяїни хребетних. Вирощування клітин хребетних в культурі (культурі тканин) стало звичайною процедурою. До прикладів придатних клітинних ліній ссавців в якості клітин-хазяїнів відносяться лінія клітин CV1 нирок мавпи, трансформована SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651);

лінія ембріональних клітин нирок людини (клітини 293 або клітини 293, субклоновані для росту в суспензійний культурі, які описані в публікації Graham et al., J. Gen Virol. 36: 59 (1977)); клітини нирок дитинчати хом'яка (BHK, ATCC CCL 10); клітини яєчника китайського хом'яка / -DHFR (CHO, Urlaub et al., Proc. Nad. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980)); клітини Сертолі миші (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251, 1980); клітини нирок мавпи (CV1 ATCC CCL 70); клітини нирок африканської зеленої мавпи (VERO-76, ATCC CRL-1 587); клітини карциноми шийки матки людини (HELA, ATCC CCL 2); клітини нирок собак (MDCK, ATCC CCL 34); клітини печінки щура лінії Buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клітини легені людини (W138, ATCC CCL 75); клітини печінки людини (Hep G2, HB 8065); пухлини молочної залози миші (MMT 060562, ATCC CCL51); TRI-клітини (Mather et al., Annals NY Acad. Sci. 383: 44-68 (1982)); клітини MRC5; клітини FS4; і лінії гепатоми людини (Hep G2).

Клітини–хазяїни трансформують за допомогою вищеописаних експресійних або клонуючих векторів для продукції антитіл і культивують в звичайних поживних середовищах, модифікованих, якщо необхідно, для індукування промоторів, відбору трансформантів або ампліфікації генів, що кодують бажані послідовності.

h) Культивування клітин-хазяїнів

Клітини-хазяїни, які застосовуються для продукції антитіл за цим винаходом, можна культивувати в різних середовищах. Для культивування клітин-хазяїнів придатні комерційно доступні середовища, як-от Ham's F10 (Sigma), мінімальне поживне середовище (MEM), (Sigma), RPMI-1640 (Sigma) і середовище Ігла в модифікації Дульбекко ((DMEM), Sigma). Крім того, будь-яке середовище, описане в публікації Ham et al., Meth. Enz. 58: 44 (1979), Barnes et al., Anal. Biochem. 102: 255 (1980), в патентах США № 4767704; 4657866; 4927762; 4560655; або 5122469; WO 90/03430; WO 87/00195; або в патенті Re. 30985, можна застосовувати в якості культурального середовища для клітин-хазяїнів. Будь-яке з цих середовищ може бути збагачене в міру необхідності гормонами та/або іншими факторами росту (як-от інсулін, трансферин або епідермальний фактор росту), солями (як-от хлорид натрію, солі кальцію, магнію і фосфатами), буферами (як-от HEPES), нуклеотидами (як-от аденозин і тиміядин), антибіотиками (як-от препарат ГЕНТАМІЦИН™), мікроелементами (які визначаються як неорганічні сполуки, зазвичай присутні в кінцевих концентраціях в мікромолярному діапазоні), а також глюкозою або еквівалентним джерелом енергії. Будь-які інші необхідні добавки також можуть бути включені у відповідних концентраціях, які будуть відомі фахівцям в цій галузі техніки. Умови культивування, як-от температура, pH тощо, є такими, які раніше застосовувалися з клітиною-хазяїном, відібраною для експресії, і будуть очевидні для звичайного кваліфікованого фахівця в цій галузі техніки.

i) Очищення білка

При застосуванні рекомбінантних методів, антитіла можна отримати внутрішньоклітинно, в периплазматичному просторі або безпосередньо такими, що секретуються в середовище. Якщо антитіло продукується внутрішньоклітинно, на першому етапі частки дебрису, або клітини-хазяїни, або лізовані фрагменти видаляються, наприклад, шляхом центрифугування або ультрафільтрації. Carter et al., Bio / Technology 10: 163-167 (1992) описує процедуру виділення антитіл, які секретуються в периплазматичний простір E. coli. Якщо коротко, клітинну пасту розморожують в присутності ацетату натрію (pH 3,5), ЕДТК і фенілметилсульфонілфториду (ФМСФ) протягом близько 30 хв. Клітинний дебрис видаляють шляхом центрифугування. Якщо антитіло секретується в середовище, супернатант з таких експресійних систем в загальному випадку спочатку концентрують, використовуючи комерційно доступний фільтр для концентрування білка, наприклад, установку для ультрафільтрації Amicon або Millipore Pellicon. З метою пригнічення протеолізу на будь-якому з перерахованих вище етапів можна застосовувати інгібітор протеази, як-от PMSF, крім того, для запобігання росту випадкових контамінуючих агентів можна застосовувати антибіотики.

Композицію білка, отриману з клітин, можна очистити за допомогою, наприклад, гідроксилапатитової хроматографії, гель-електрофорезу, діалізу і афінної хроматографії, причому прийнятнішою методикою очищення є афінна хроматографія. Придатність білка A в якості афінного ліганду залежить від виду і ізотипу будь-якого Fc-домену імуноглобуліну, який присутній в антитілі. Білок A можна застосовувати для очищення антитіл, які є похідними від імуноглобулінів людини, містять 1, 2 або 4 важкі ланцюги (Lindmark et al., J. Immunol Meth. 62: 1-13 (1983)). Білок G рекомендується для всіх ізотипів миші і для людини 3 (Guss et al., EMBO J. 5: 15671575 (1986)). Матриця, до якої приєднується афінний ліганд, найбільш часто являє собобю агарозу, але також доступні й інші матриці. Механічно стабільні матриці, як-от контрольоване пористе скло або полі(стирол-дивініл)бензол, дозволяють прискорити швидкість потоку і скоротити час обробки, в порівнянні з агарозною матрицею. Якщо антитіло містить домен C_H3,

для очищення придатною є смола Bakerbond ABXTM (JT Baker, Філіпсбург, штат Нью-Джерсі). Залежно від антитіла, що підлягає вилученню, доступні також інші методи очищення білка, як-от фракціонування на іонообмінній колонці, осадження етанолом, ВЕРХ з оберненою фазою, хроматографія на діоксиді кремнію, хроматографія на гепарині SEPHAROSE ™, хроматографія на аніонній або катіонообмінній смолі (як-от колонка з поліаспарагіновою кислотою), хроматофокусування, ДСН-ПААГ-електрофорез і осадження сульфатом амонію.

Після будь-якого (их) етапу (ів) попереднього очищення, суміш, яка містить антитіло, що представляє інтерес, і контамінуючі агенти, може бути піддана хроматографії з гідрофобною взаємодією із низьким pH із застосуванням буфера для елюювання при pH між близько 2,5-4,5, прийнятніше при низьких концентраціях солей (наприклад, від близько 0-0,25 М солі).

Імунокон'югати

У деяких варіантах реалізації цього винаходу також пропонуються імунокон'югати, що містять будь-яке з антитіл (наприклад, sdAb), описаних в цьому документі, кон'югованих з одним або більшою кількістю цитотоксичних агентів, наприклад, хіміотерапевтичними засобами або лікарськими речовинами, інгібіторами росту, токсинами (наприклад, білковими токсинами, токсинами бактеріального, грибкового, рослинного або тваринного походження, що володіють ферментативною активністю, або їх фрагментами) або радіоактивними ізотопами.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу імунокон'югат являэ собою кон'югат антитіло-лікарський засіб (ADC), в якому антитіло кон'югованез одним або більшою кількістю лікарських засобів, включаючи, але не обмежуючись ними, майтансиноїд (див. в патентах США №№ 5208020, 5416064 та в Європейському патенті EP 0 425 235 B1); ауристатин, наприклад, фрагменти лікарського засобу монометилауристатину DE і DF (MMAE і MMAF) (див. в атентах США №№ 5635483 і 5780588, а також 7498298); доластатин; каліхеаміцин або його похідне (див. в патентах США №№ 5712374, 5714586, 5739116, 5767285, 5770701, 5770710, 577001 і 5877296; Hinman et al., Cancer Res. 53: 3336-3342 (1993); і Lode et al., Cancer Res. 58: 2925-2928 (1998)); антрациклін, в тому Ошибка! Закладка не определена.числі дауноміцин або доксорубіцин (див. Kratz et al., Current Med. Chem. 13: 477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16: 358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16: 717-721 (2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97: 829-834 (2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12: 1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002); і в патенті США № 6630579); метотрексат; віндезин; таксан, як-от доцетаксел, паклітаксел, ларотаксел, тезетаксел і ортатаксел; тріхотецен; а також CC1065.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу імунокон'югат містить антитіло, як описано в цьому документі, кон'юговане з ферментативно активним токсином або його фрагментом, включаючи, але не обмежуючись ними, ланцюг А дифтерійного токсину, активні фрагменти дифтерійного токсину, які не зв'язуються, ланцюг А екзотоксину (з Pseudomonas aeruginosa), ланцюг А рицину, ланцюг А абрину, ланцюг А модексину, альфа-сарцин, білки Aleurites fordii, білки діантини, білки Phytolaca americana (PAPI, PAPII і PAP-S), інгібітор Momordica charantia, курцин, кротин, інгібітор Sapaonaria officinalis, гелонін, мітогелін, рестриктоцин, феноміцин, еноміцин або трікотецени.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу імунокон'югат містить антитіло, як описано в цьому документі, кон'юговане з радіоактивним атомом з утворенням радіокон'югата. Для отримання радіокон'югатів доступні різноманітні радіоактивні ізотопи. Приклади включають в себе At^{211}, I^{131}, I^{125}, Y^{90}, Re^{186}, Re^{188}, Sm^{153}, Bi^{212}, P^{32}, Pb^{212} і радіоактивні ізотопи Lu. У разі, якщо радіокон'югат застосовують для виявлення, він може містити радіоактивний атом для сцинтиграфічних досліджень, наприклад, tc99m або I123, або спінову мітку, що застосовується для візуалізації ядерного магнітного резонансу (ЯМР) (також відомого як магнітно-резонансна томографія, МРТ), як-от, знову ж таки, йод-123, йод-131, індій-111, фтор-19, вуглець-13, азот-15, кисень-17, гадоліній, марганець або залізо.

Кон'югати антитіла і цитотоксичного агента можуть бути отримані із застосуванням безлічі біфункціональних агентів, що зв'язують білок, як-от N-сукциніміди-3- (2-піридилдитіо) пропіонат (SPDP), сукциніміди-4-(N-малеїмідометил) циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), імінотіолан (IT), біфункціональні похідні імідоефірів (як-от диметиладипімідат HCl), активні складні ефіри (як-от дисукцинімідил суберат), альдегіди (як-от глутаровий альдегід), біс-азидосполуки (як-от біс (п-азидобензоїл) гександиамін), похідні біс-діазонію (як-от біс (п-діазонійбензоїл)-етілендіамін), диізоціанати (як-от толуол-2,6-диізоцианат) і біс-активні сполуки фтору (як-от 1,5-дифтор-2,4-динітробензол). Наприклад, рициновий імунотоксин може бути отриманий, як описано в Vitetta et al., Science 238: 1 098 (1987). 1-Ізотіоціанатбензил-3-метилдіетилентріамінпентауксусна кислота (MX-DTPA), мічена вуглецем-14, являє собою типовий хелатуючий агент для кон'югування радіонуклеотиду з антитілом. Див. WO94/11026. Лінкер може являти собою

"лінкер, що розщеплюється", який полегшує вивільнення цитотоксичного лікарського засобу в клітині. Наприклад, можна застосовувати кислотолабільний лінкер, лінкер, чутливий до пептидази, фото лабільний лінкер, диметильний лінкер або дисульфідвмісний лінкер (Chari et al., Cancer Res. 52: 127-131 (1992); патент США № 5208020).

В цьому винаході чітко передбачається застосування імунокон'югатів або ADC, але без обмеження, наприклад, кон'югатів, отриманих із застосуванням реагентів крос-лінкера, включаючи, але не обмежуючись ними, BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, сульфо-EMCS, сульфо-GMBS, сульфо-KMUS, сульфо-MBS, сульфо-SIAB, сульфо-SMCC і сульфо-SMPB і SVSB (сукцинімідил- (4-вінілсульфон) бензоат), які є комерційно доступними (наприклад, від компанії Pierce Biotechnology, Inc., Рокфорд, штат Ілінойс, США).

Способи та композиції для діагностики та виявлення

У деяких варіантах реалізації цього винаходу будь-яке з антитіл (як-от sdAb), запропонованих в цьому документі, є придатним для виявлення наявності BCMA у біологічному зразку. В цьому контексті термін "виявлення" охоплює кількісне або якісне виявлення. У деяких варіантах реалізації цього винаходу біологічний зразок являє собою кров, сироватку або інші рідкі зразки біологічного походження. У деяких варіантах реалізації цього винаходу біологічний зразок включає клітину або тканину.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується антитіло анти-BCMA (як-от будь-яке анти-BCMA sdAb, описане в цьому документі) для застосування в способі діагностики або виявлення. У додатковому аспекті пропонується спосіб виявлення наявності BCMA у біологічному зразку. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вказаний спосіб включає виявлення наявності білка BCMA у біологічному зразку. У деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA являє собою BCMA людини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу зазначений спосіб включає приведення в контакт біологічного зразка з антитілом анти-BCMA, як описано в цьому документі, в умовах, що забезпечують зв'язування антитіла анти-BCMA з BCMA, і визначення утворення комплексу антитіла анти-BCMA з BCMA. Такий спосіб можна здійснюватиш vitro або in vivo. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антитіло анти-BCMA застосовують для вибору суб'єктів, які підходять для лікування за допомогою антитіла анти-BCMA, наприклад, якщо BCMA є біомаркером для відбору пацієнтів.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонуються мічені анти-BCMA sdAb. Мітки включають в себе, але не обмежуються перерахованим, мітки або фрагменти, які можна детектувати безпосередньо (як-от флуоресцентні, хромофорні, електронощільні, хемілюмінесцентні і радіоактивні мітки), а також фрагменти, тяк-от ферменти або ліганди, які можна детектувати опосередковано, наприклад, за допомогою ферментативної реакції або молекулярної взаємодії. Типові мітки включають в себе, але не обмежуються перерахованим, радіоізотопи ^{32}P, ^{14}C, ^{125}I, ^{3}H і ^{131}I, флуорофор, як-от рідкоземельні хелати або флуоресцеїн і його похідні, родамін і його похідні, дансил, умбеліферон, люциферази, наприклад, люциферазa світлячка і бактеріальна люціфераза (описана в патенті США № 4737456), люциферин, 2,3-дигідрофталазиндіони, пероксидазу хрону (HRP), лужну фосфатазу, β-галактозидазу, глюкоамілазу, лізозим, сахаридоксидази, наприклад, глюкооксидаза, галактооксидаза і глюкоза-6-фосфат дегідрогеназа, гетероциклічні оксидази, як-от уриказа і ксантиноксидаза, приєднані до ферменту, який використовує пероксид водню для окислення попередника барвника, як-от HRP, лактопероксидаза або мікропероксидаза, біотин/авідин, спінові мітки, бактеріофагові мітки, стабільні вільні радикали і т. д.

III. Химерні антигенні рецептори

В одному аспекті цього винаходу пропонується химерний антигенний рецептор (CAR), що містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить одне або більшу кількість однодоменних антитіл (як-от V_HH). Будь-яке одне анти-BCMA sdAb, описане в розділі II, можна застосовувати в CAR, описаних в цьому документі. Типові структури CAR проілюстровані на Фіг. 15A-15D.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується CAR, націлений на BCMA (також згадується в цьому документі як "BCMA CAR"), який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є верблюжим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (наприклад, Т-клітини). У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний

сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен є похідним від костимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, ICOS, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7 -H3, лігандів CD83 та їх комбінацій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR додатково містить шарнірний домен (як-от шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR додатково містить сигнальний пептид (як-от сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вказаний поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD28, перший костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD28, другий костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD 137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вказаний поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD 137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR є моноспецифічним. В деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR є одновалентним.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується BCMA CAR, що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-BCMA sdAb містить будь-який з наступних елементів: (1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77; (2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; (3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79; (4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80; (5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81; (6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 82; (7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 83; (8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 84; (9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85; (10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86; (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87; (12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 88; (13) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 89; (14) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 90; (15) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 91; (16) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 92; (17) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93; (18) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність

SEQ ID NO: 94; (19) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 95; (20) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96; (21) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 97; (22) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 98; (23) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 99; (24) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 100; (25) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 101; (26) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 102; (27) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 103; (28) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 104; (29) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 105; (30) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 106; (31) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 107; (32) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 108; (33) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 109; (34) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 110; (35) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 111; (36) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 112; (37) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 113; або (38) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 114. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є верблюжим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb містить доменУнН, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 115-152. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (наприклад, Т-клітини). У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен є похідним від костимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, ICOS, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7 –H3, лігандів CD83 та їх комбінацій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR додатково містить шарнірний домен (як-от шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR додатково містить сигнальний пептид (як-от сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вказаний поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний

пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD28, перший костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD28, другий костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вказаний поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR є моноспецифічним. В деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR є одновалентним.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується BCMA CAR, що містить поліпептид, що характеризується щонайменше близько 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю, вибраною з групи, що складається з SEQ ID NO: SEQ ID NO: 216-256 і 298-335. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується BCMA CAR, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 216-256 і 298-335. Також пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 216-256 і 298-335.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-який з BCMA CAR, описаних в цьому документі. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що характеризується щонайменше близько 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю послідовності з послідовністю нуклеїнової кислоти, вибрано, з групи, що складається з SEQ ID NO: 257-297 і 336-373. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 257-297 і 336-373. У деяких варіантах реалізації цього винаходу виділена нуклеїнова кислота являє собою ДНК. У деяких варіантах реалізації цього винаходу виділена нуклеїнова кислота являє собою РНК. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується вектор, який містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують BCMA CAR, описані вище. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою експресійний вектор. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою являє собою вірусний вектор, як-от лентивірусний вектор. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою невірусний вектор. Типові одновалентні BCMA CAR наведені в Таблиці 4 нижче.

Таблиця 4

Типові одновалентні BCMA CAR.

Тип. Назва вектора або CAR	Тип. AA SEQ ID	Тип. NA SEQ ID	SP	Позакліт инн. sdAb	Шарнір	TM	Внутрішньоклітинна сигналізація		
							CO1	CO2	Пер в.
PLLV-hEF1a-269A37346	216	257	CD8α	269A37346	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLLV-hEF1a-269A37348	217	258	CD8α	269A37348	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLLV-hEF1a-269A37917	218	259	CD8α	269A37917	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLLV-hEF1a-269A37355	219	260	CD8α	269A37355	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLLV-hEF1a-269A37915	220	261	CD8α	269A37915	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLLV-hEF1a-269A37936	221	262	CD8α	269A37936	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLLV-hEF1a-269A37953	222	263	CD8α	269A37953	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLLV-hEF1a-269A37965	223	264	CD8α	269A37965	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLLV-hEF1a-269A37972	224	265	CD8α	269A37972	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ

Таблиця 4 (продовження)

Тип. Назва вектора або CAR	Тип. AA SEQ ID	Тип. NA SEQ ID	SP	Позакліт инн. sdAb	Шарнір	TM	Внутрішньоклітинна сигналізація		
							CO1	CO2	Пер в.
PLLV-hEF1a-269A37353	225	266	CD8α	269A37353	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
PLLV-hEF1a-269A37948	226	267	CD8α	269A37948	CD8α	CD28	CD28	CD137	CD3ζ
GSI5011 CAR	227	268	CD8α	269A37346	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
GSI5019 CAR	228	269	CD8α	269A37353	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
GSI5020 CAR	229	270	CD8α	269A37917	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B005S	230	271	CD8α	269B005	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B023S	231	272	CD8α	269B023	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B024S	232	273	CD8α	269B024	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B028S	233	274	CD8α	269B028	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B030S	234	275	CD8α	269B030	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B038S	235	276	CD8α	269B038	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B054S	236	277	CD8α	269B054	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B059S	237	278	CD8α	269B059	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B060S	238	279	CD8α	269B060	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B069S	239	280	CD8α	269B069	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B074S	240	281	CD8α	269B074	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B076S	241	282	CD8α	269B076	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B079S	242	283	CD8α	269B083	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B083S	243	284	CD8α	269B085	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B085S	244	285	CD8α	269B093	CD8a	CD8a	CD137	NA	CD3ζ
269B093S	245	286	CD8α	269B094	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B094S	246	287	CD8α	269B104	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B104S	247	288	CD8α	269B109	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B109S	248	289	CD8α	269B110	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B110S	249	290	CD8α	269B113	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B113S	250	291	CD8α	269B126	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B126S	251	292	CD8α	269B129	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B129S	252	293	CD8α	269B131	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B131S	253	294	CD8α	269B135	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B135S	254	295	CD8α	269B136	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B136S	255	296	CD8α	269B139	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ
269B139S	256	297	CD8α	269B024	CD8α	CD8α	CD137	NA	CD3ζ

Полівалентні химерні антигенні рецептори

В цьому винаході також пропонуються мультивалентні CAR, які мають два або більшу кількість (наприклад, близько 2, 3, 4, 5, 6 або більше) зв'язуючих фрагментів, які специфічно зв'язуються з антигеном, як-от BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів є антигензв'язуючими фрагментами. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів містять однодоменні антитіла. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів є похідними від верблюжих антитіл. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів є похідними від чотириланцюгового антитіла. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів являють собою scFv. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів є похідними від антитіл людини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів є поліпептидними лігандами або іншими поліпептидами, що не належать до антитіл, які специфічно зв'язуються з антигеном. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR є моноспецифічним, тобто мультивалентний CAR націлений на один антиген і містить дві або більшу кількість ділянок зв'язування для одного

антигену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR є мультиспецифічним, тобто мультивалентний CAR націлений на більш ніж один антиген, і при цьому мультивалентний CAR містить дві або більшу кількість ділянок зв'язування щонайменше для одного антигену. Зв'язуючі фрагменти, специфічні для одного і того ж антигену, можуть зв'язуватися з одним і тим же епітопом антигену (тобто "моноепітопний CAR") або можуть зв'язуватися з різними епітопами (тобто "мультиепітопний CAR", як-от двоепітопний CAR або триепітопний CAR) антигену. Ділянки зв'язування, специфічні для одного і того ж антигену, можуть містити однакові або різні sdAb.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний (наприклад, двовалентний, тривалентний або з великим числом валентностей) химерний антигенний рецептор, що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить безліч однодоменних (наприклад, щонайменше близько 2, 3, 4, 5, 6 і більше) зв'язуючих фрагментів, які специфічно зв'язуються з антигеном (як-от пухлинний антиген); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпіду F77.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний (наприклад, двовалентний, тривалентний або з великим числом валентностей) химерний антигенний рецептор, що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить безліч (наприклад, щонайменше близько 2, 3, 4, 5, 6 і більше) однодоменних антитіл (sdAb), які специфічно зв'язуються з антигеном (як-от пухлинний антиген); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпіду F77.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний (наприклад, двовалентний, тривалентний або з великим числом валентностей) химерний антигенний рецептор, що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючийх домен, що містить перший зв'язуючий фрагмент, який специфічно зв'язується з першим епітопом антигену (як-от пухлинний антиген), і другий зв'язуючий фрагмент, який специфічно зв'язується з другим епітопом антигену; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпіду F77. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший зв'язуючий фрагмент являє собою sdAb, а другий зв'язуючий фрагмент є похідним від антитіла людини (наприклад, ScFv). У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший зв'язуючий фрагмент являє собою sdAb, а другий зв'язуючий фрагмент являє собою поліпептидний ліганд. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший епітоп є таким же, як другий епітоп. У деяких додаткових варіантах реалізації цього винаходу перший епітоп відрізняється від другого епітопу. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний CAR специфічно зв'язується з двома різними епітопами на антигені. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультівалентний CAR специфічно зв'язується з трьома або більшою кількістю різних епітопів на антигені.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний (наприклад, двовалентний, тривалентний або з великим числом валентностей) химерний антигенний рецептор, що містить поліпептид, який містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше sdAb, яку специфічно зв'язується з першим епітопом антигену (як-от пухлинний антиген), і друге sdAb, яке специфічно зв'язується з другим епітопом антигену; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антиген вибирають з групи, що складається з CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD 138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпіду F77.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу зв'язуючі фрагменти, як-от sdAb (включаючи безліч sdAb або перше sdAb та/або друге sdAb), є верблюжими, химерними, людськими або гуманізованими. У деяких варіантах реалізації цього винаходу зв'язуючі фрагменти або sdAb є злитими один з одним за допомогою пептидних зв'язків або пептидних лінкерів. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж близько 50 (наприклад, не більше ніж близько 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8α,

CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (наприклад, Т-клітини). У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен є похідним від костимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, ICOS, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7 –H3, лігандів CD83 та їх комбінацій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний CAR додатково містить шарнірний домен (як-от шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний CAR додатково містить сигнальний пептид (як-от сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вказаний поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний CAR є моноспецифічним. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний CAR є мультиспецифічним (наприклад, біспецифічним).

Описані в цьому документі мультивалентні CAR можуть бути особливо придатні для націлювання на мультимерні антигени за допомогою синергетичного зв'язування різними ділянками зв'язування антигену або для посилення афінності зв'язування або авідності до антигену. Будь-яке з описаних в цьому документі анти-BCMA sdAb можна застосовувати у позаклітинному антигензв'язуючому домені мультивалентних CAR, описаних в цьому документі. Перелік типових мультивалентних BCMA CAR, їх типових послідовностей, конструкцій і векторів наведений в Таблиці 5.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний CAR, націлений на BCMA, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить безліч (наприклад, щонайменше, близько 2, 3, 4 або більше) BCMA-зв'язуючих фрагментів (наприклад, анти-BCMA sdAb); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен. Для побудови мультивалентного BCMA CAR можна застосовувати будь-яке з анти-BCMA sdAb. У деяких варіантах реалізації цього винаходу позаклітинний антигензв'язуючий домен специфічно зв'язується з одним епітопом BCMA, і ці CAR згадуються в цьому документі як моноепітопні мультивалентні BCMA CAR.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний BCMA CAR, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить безліч (наприклад, щонайменше близько 2, 3, 4 або більше) анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: I, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний BCMA CAR (який в цьому документі також згадується як "мультиепітопний мультивалентний CAR"), що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить щонайменше два (наприклад, 2, 3, 4 або більшу кількість) BCMA-зв'язуючих фрагмента; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому щонайменше два BCMA-зв'язуючих фрагмента специфічно зв'язуються щонайменше з двома різними епітопами на BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу позаклітинний антигензв'язуючий домен містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою анти-BCMA sdAb, а другий BCMA-зв'язуючий фрагмент є похідним від антитіла людини (наприклад, ScFv). У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою sdAb, а другий BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою поліпептидний ліганд. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент та/або другий BCMA-зв'язуючий фрагмент специфічно зв'язуються з епітопом на BCMA, похідним від амінокислотної послідовності, вибраної з SEQ ID NO: 388-394. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент специфічно зв'язується з епітопом, похідним від SEQ ID NO: 389 та/або 390. У деяких варіантах реалізації цього винаходу другий BCMA-зв'язуючий фрагмент специфічно зв'язується з епітопом, похідним від SEQ ID NO: 391 та/або 392.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний BCMA CAR, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb специфічно зв'язуються з різними епітопами на BCMA. Для побудови мультивалентного BCMA CAR можна застосовувати будь-яке з анти-BCMA sdAb. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb та/або друге анти-BCMA sdAb специфічно зв'язується з епітопом на BCMA, похідним від амінокислотної послідовності, вибраної з SEQ ID NO: 388-394. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb специфічно зв'язується з епітопом, похідним від SEQ ID NO: 389 та/або 390. У деяких варіантах реалізації цього винаходу друге анти-BCMA sdAb специфічно зв'язується з епітопом, похідним від SEQ ID NO: 391 та/або 392.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний BCMA CAR, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79; і при цьому друге анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 117. У деяких варіантах реалізації цього винаходу друге анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 124. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 124. У деяких варіантах реалізації цього винаходу друге анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 117.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний BCMA CAR, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86; і при цьому анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 124. У деяких варіантах реалізації цього винаходу друге анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 125.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний BCMA CAR, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 83; і при цьому анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 121. У деяких варіантах реалізації цього винаходу друге анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 125.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний BCMA CAR, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 91; і при цьому анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 94. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 129. У деяких варіантах

реалізації цього винаходу друге анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 132.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується пропонується мультивалентний BCMA CAR, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56, і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 94; і при цьому анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58 і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 132. У деяких варіантах реалізації цього винаходу друге анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 134.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується пропонується мультивалентний BCMA CAR, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, містить перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58 і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96; і при цьому анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28, CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66 і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 104. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 134. У деяких варіантах реалізації цього винаходу друге анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 142.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (наприклад, перше анти-BCMA sdAb) розташований на N-кінці другого BCMA-зв'язуючого фрагмента (наприклад, другого анти-BCMA sdAb). У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (наприклад, перше анти-BCMA sdAb) розташований на C-кінці другого BCMA-зв'язуючого фрагмента (наприклад, другого анти-BCMA sdAb). У деяких варіантах реалізації цього винаходу перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (наприклад, перше анти-BCMA sdAb) і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент (наприклад, друге анти-BCMA sdAb) є злитими один з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкера. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж близько 50 (наприклад, не більше ніж близько 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (наприклад, Т-клітини). У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен є похідним від костимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, ICOS, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7 -H3, лігандів CD83 та їх комбінацій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний BCMA CAR додатково містить шарнірний домен (як-от шарнірний домен CD8α), розташований між C-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний BCMA CAR додатково містить сигнальний пептид (як-от сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах реалізації цього винаходу поліпептид містить від N-кінця до C-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8a, трансмембранний домен CD8α, костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультЬвалентний BCMA CAR є двовалентним. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний BCMA CAR є тривалентним. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний BCMA CAR специфічно зв'язується з двома різними епітопами на BCMA. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний BCMA CAR специфічно зв'язується з трьома або більшою кількістю різних епітопів на BCMA.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний BCMA CAR, що містить поліпептид, що характеризується щонайменше близько 85 %, 86 %, 87 %, 88 %,

89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю послідовності з амінокислотною послідовністю, вибраною з групи, що складається з SEQ ID NO: 298-335. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультивалентний BCMA CAR, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 298-335. Також пропонується поліпептид, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 298-335.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує будь-який з мультивалентних BCMA CAR, описаних в цьому документі. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, що характеризується щонайменше близько 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичністю послідовності з послідовністю нуклеїнової кислоти, вибрано, з групи, що складається з SEQ ID NO: 336-373. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 336-373. У деяких варіантах реалізації цього винаходу виділена нуклеїнова кислота являє собою ДНК. У деяких варіантах реалізації цього винаходу виділена нуклеїнова кислота являє собою РНК. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується вектор, що містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують полівалентні BCMA CAR, описані вище. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою експресійний вектор. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою являє собою вірусний вектор, як-от лентивірусний вектор. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою невірусний вектор. Типові мультивалентні BCMACAR наведені в Таблиці 5 нижче.

Таблиця 5

Типові мультивалентні BCMA CAR.

CAR	Тип. AA SEQ ID	Тип. NA SEQ ID	SP	Позаклітинний антигензв'язуючий домен					Шарнір	TM	Внутрішньоклітинна сигналізація	
				sdAb # 1	Lnk. #1 SEQ ID	sdAb #2	Lnk. #2 SEQ ID	sdAb # 3			CO1	Перв.
GSI 5014	298	336	CD8α	269A3 7346	208	269A3 7346	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI 5015	299	337	CD8α	269A3 7346	208	269A3 7346	208	269A3 7346	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI 5021	300	338	CD8α	269A3 7353	208	269A3 7917	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI 502 2	301	339	CD8α	269A3 7353	213	269A3 7917	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI 5023	302	340	CD8α	269A3 7353	215	269A3 7917	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI 502 4	303	341	CD8α	269A3 7917	209	269A3 7353	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI 5025	304	342	CD8α	269A3 7917	213	269A3 7353	N	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
GSI 5026	305	343	CD8α	269A3 7917	214	269A3 7353	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 001	306	344	CD8α	269A3 7353	208	269A3 7948	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 002	307	345	CD8α	269A3 7353	213	269A3 7948	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BC AR 003	308	346	CD8α	269A3 7353	215	269A3 7948	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 004	309	347	CD8α	269A3 7948	209	269A3 7353	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ

Таблиця 5 (продовження)

CAR	Тип. AA SEQ ID	Тип. NA SEQ ID	SP	Позаклітинний антигензв'язуючий домен					Шарнір	TM	Внутрішньоклітинна сигналізація	
				sdAb # 1	Lnk. #1 SEQ ID	sdAb #2	Lnk. #2 SEQ ID	sdAb # 3			CO1	Перв.
BCAR 005	310	348	CD8α	269A3 7948	213	269A3 7353	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 006	311	349	CD8α	269A3 7948	214	269A3 7353	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 007	312	350	CD8α	269A3 7953	208	269A3 7948	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 008	313	351	CD8α	269A3 7953	213	269A3 7948	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 009	314	352	CD8α	269A3 7953	215	269A3 7948	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 010	315	353	CD8α	269A3 7953	209	269A3 7948	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 011	316	354	CD8α	269A3 7953	213	269A3 7948	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 012	317	355	CD8α	269A3 7953	214	269A3 7948	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 013	318	356	CD8α	269B028	208	269B054	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 014	319	357	CD8α	269B028	213	269B054	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 015	320	358	CD8α	269B028	215	269B054	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BC AR 016	321	359	CD8α	269B028	209	269B054	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 017	322	360	CD8α	269B028	213	269B054	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 018	323	361	CD8α	269B028	214	269B054	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 019	324	362	CD8α	269B054	208	269B060	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 020	325	363	CD8α	269B054	213	269B060	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 021	326	364	CD8α	269B054	215	269B060	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 022	327	365	CD8α	269B054	209	269B0 60	N A	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 023	328	366	CD8α	269B054	213	269B060	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 024	329	367	CD8α	269B054	214	269B060	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 025	330	368	CD8α	269B060	208	269B094	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 026	331	369	CD8α	269B060	213	269B094	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 027	332	370	CD8α	269B0 60S	215	269B094	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 028	333	371	CD8α	269B0 60	209	269B094	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ

Таблиця 5 (продовження)

CAR	Тип. AA SEQ ID	Тип. NA SEQ ID	SP	Позаклітинний антигензв'язуючий домен					Шарнір	TM	Внутрішньоклітинна сигналізація	
				sdAb # 1	Lnk. #1 SEQ ID	sdAb #2	Lnk. #2 SEQ ID	sdAb # 3			CO1	Перв.
BCAR 029	334	372	CD8α	269B060	213	269B094	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ
BCAR 030	335	373	CD8α	269B060	214	269B094	NA	NA	CD8α	CD8α	CD137	CD3ζ

У цьому винаході також пропонуються мультиспецифічні химерні антигенні рецептори, націлені на два або більшу кількість (наприклад, на близько 2, 3, 4, 5, 6 або більше) різних антигенів. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультиспецифічний CAR має одну антигензв'язуючу ділянку для кожного антигену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультиспецифічний CAR має більше двох ділянок зв'язування щонайменше для одного антигену. Кожна антигензв'язуюча ділянку може містити sdAb. Наприклад, в деяких варіантах реалізації цього винаходу мультиспецифічний CAR являє собою біспецифічний CAR, що містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить два різних sdAb, кожне з яких специфічно зв'язується з антигеном. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR являє собою триспецифічний CAR, що містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить три різних sdAb, кожне з яких специфічно зв'язується з антигеном.

[У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується мультиспецифічний (наприклад, біспецифічний) химерний антигенний рецептор (CAR), який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше однодоменнех антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з BCMA, і друге однодоменнех антитіло (sdAb), яке специфічно зв'язується з другим антигеном (як-от пухлинний антиген); (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший антиген відрізняється від другого антигену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу другий антиген вибирають з групи, що складається з CD 19, CD20, CD22, CD33, CD38, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпіду F77. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше sdAb та/або друге sdAb є верблюжим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше sdAb і друге sdAb є злитими один з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкеру. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж близько 50 (наприклад, не більше ніж близько 35, 25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8a, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (наприклад, Т-клітини). У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен є похідним від костимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, ICOS, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7 –H3, лігандів CD83 та їх комбінацій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультиспецифічний CAR додатково містить шарнірний домен (як-от шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультиспецифічний CAR додатково містить сигнальний пептид (як-от сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах реалізації цього винаходу поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD 137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен

CD28, костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD28, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3ζ.

Позаклітинний антигензв'язуючий домен

Позаклітинний антигензв'язуючий домен CAR, описаний в цьому документі, містить один або більшу кількість (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5, 6 або більше) зв'язуючих фрагментів, як-от sdAb. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів є антитілами або їх антигензв'язуючими фрагментами. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів є похідними від чотириланцюгових антитіл. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів є похідними від верблюжих антитіл. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів є похідними від антитіл людини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість зв'язуючих фрагментів є зв'язуючими білками, що не належать до антитіл, як-от поліпептидні ліганди або сконструйовані білки, які зв'язуються з антигеном. Зв'язуючі фрагменти можуть бути злиті один з одним безпосередньо за допомогою пептидних зв'язків або за допомогою пептидних лінкерів.

1. Однодоменні антитіла

У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR містить позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить один або більшу кількість sdAb. SdAb можуть бути однакового або різного походження і однакового або різного розміру. Типові sdAb включають в себе, але не обмежуються ними, варіабельні домени важкого ланцюга з антитіл тільки з важким ланцюгом (наприклад, V_HH або V_{NAR}) зв'язуючі молекули, за своєю природою позбавлені легких ланцюгів, окремі домени (як-от V_H або V_L), похідні від звичайних 4-ланцюгових антитіл, гуманізовані антитіла тільки з важким ланцюгом, sdAb людини, які продукуються трансгенними мишами або щурами, що експресують сегменти важкого ланцюга людини, а також сконструйовані домени і однодоменні каркаси, що відрізняються від тих, які отримані з антитіл. Будь-які sdAb, відомі в цій галузі техніки або розроблені авторами винаходу, включаючи sdAb, описані в розділі II цієї заявки, можна застосовувати для конструювання CAR, описаних у цьому документі. SdAb можуть бути отримані з будь-яких видів, включаючи, але не обмежуючись ними, мишу, щура, людину, верблюда, ламу, міногу, рибу, акулу, козу, кролика і бика. Однодоменніантитіла, що розглядаються в цьому документі, також включають в себе молекули sdAb, що зустрічаються в природі, від інших видів, крім представників сімейства верблюжих і акул.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу sdAb є похідним від однодоменної антигензв'язуючої молекули, що зустрічаються в природі, відомої як антитіло з важким ланцюгом, позбавлене легких ланцюгів (також згадується в цьому документі як "антитіло тільки з важким ланцюгом"). Такі однодоменні молекули описані в WO 94/04678 і в публікації Hamers-Casterman, C. et al. (1993) Nature 363: 446-448, наприклад. Для ясності, варіабельний домен, що є похідним від молекули важкого ланцюга, за своєю природою позбавленої легкого ланцюга, позначається в цьому документі як V_HH, щоб можна було відрізнити його від звичайних V_H чотириланцюгових імуноглобулінів. Така молекула V_HH може бути похідною від антитіл, вирощених в організмі представника виду верблюжих, наприклад, верблюда, лами, вікуньї, дромадера, альпаки і гуанако. Інші види, крім представників сімейства верблюжих, можуть продукувати молекули важкого ланцюга, за своєю природою позбавлені легкого ланцюга, причому такі V_HH входять в об'єм і зміст цього винаходу.

Молекули V_HH представників сімейства верблюжих є приблизно в 10 разів менше, ніж молекули IgG. Такі молекули являють собою поодинокі поліпептиди і можуть бути дуже стабільними, зберігаючи стійкість до екстремальних значень pH і температури. Більш того, вони можуть бути стійкими до дії протеаз, що не характерно для звичайних 4-ланцюгових антитіл. Більш того, експресія in vitro V_HH забезпечує високий рівень продукування правильно складених функціональних V_HH. Крім того, антитіла, що виробляються в організмі представників сімейства верблюжих, можуть розпізнавати епітопи, що відрізняються від тих, які розпізнаються антитілами, що продукуються in vitro, шляхом застосування бібліотек антитіл або шляхом імунізації ссавців, що не відносяться до сімейства верблюжих (див., наприклад, WO 9749805). Таким чином, мультиспецифічні або полівалентні CAR, що містять один або більшу кількість доменів V_HH можуть більш ефективно взаємодіяти з мішенями, ніж мультиспецифічні або полівалентні CAR, що містять антигензв'язуючі фрагменти, отримані зі звичайних 4-ланцюгових антитіл. Оскільки відомо, що V_HH зв'язуються з "незвичайними" епітопами, як-от западини або борозенки, афінність CAR, що включають такі V_HH, може бути більш придатною для терапевтичного застосування порівняно зі звичайними мультиспецифічними поліпептидами.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу sdAb є похідним від вариабельної ділянки імуноглобуліну, виявленого у хрящової риби. Наприклад, sdAb може бути похідним від ізотипу

імуноглобуліну, відомого як новий антигенний рецептор (NAR), виявлений у сироватці акули. Способи отримання однодоменних молекул, які є похідними від варіабельної ділянки NAR ("IgNAR"), описані в WO 03/014161 і в публікації Streltsov (2005) Protein Sci. 14: 2901-2909.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу sdAb є рекомбінантним, CDR-щепленим, гуманізованим, верблюжим, деімунізованим та/або створеним in vitro (наприклад, відібраним за допомогою фагового дисплею). У деяких варіантах реалізації цього винаходу амінокислотну послідовність каркасних ділянок можна змінити шляхом "оверблюжування" окремих амінокислотних залишків в каркасних ділянках. "Оверблюжування" відноситься до заміни або заміщення одного або більшої кількості амінокислотних залишків в амінокислотній послідовності домену V_H (що зустрічається в природі) від звичайного 4-ланцюгового антитіла одним або більшою кількістю амінокислотних залишків, які зустрічаються у відповідному положенні (положеннях) в домені V_HH антитіла важкого ланцюга. Це може бути виконано за допомогою способів, відомих фахівцеві в цій галузі техніки, наприклад, відповідно до подальшого опису. Прийнятніше, коли такі "оверблюжені" заміни вставляють в положення амінокислот, які утворюють та/або присутні на внутрішній поверхні V_H-V_L, та/або на так званих характерних залишках представників верблюжих, як визначено в цьому документі (див., наприклад, WO 94/04678, Davies і Riechmann FEBS Letters 339: 285-290, 1994; Davies and Riechmann Protein Engineering 9 (6): 531-537, 1996; Riechmann J. Mol. Biol. 259: 957-969, 1996; а також Riechmann і Muyldermans J. Immunol. Meth. 231: 25-38, 1999).

У деяких варіантах реалізації цього винаходу sdAb являє собою sdAb людини, що продукується трансгенними мишами або щурами, які експресують сегменти важкого ланцюга людини. Див., наприклад, US20090307787A1, патент США № 8754287, US20150289489A1, US20100122358A1 і WO2004049794. У деяких варіантах реалізації цього винаходу sdAb характеризується дозрілою афінністю.

Домени V_HH, що зустрічаються в природі, проти конкретного антигену або мішені можнаотримати з (наївних або імунних) бібліотек послідовностей V_HH представників сімейства верблюжих. Такі способи можуть включати чи не включати скринінг такої бібліотеки із застосуванням вказаного антигену або мішені, або щонайменше однієї частини, фрагмента, антигенної детермінанти або його епітопу за допомогою одного або більшої кількості відомих методів скринінгу. Такі бібліотеки і способи, наприклад, описані в WO 99/37681, WO 01/90190, WO 03/025020 і WO 03/035694. В альтернативних варіантах можна застосовувати поліпшені синтетичні або напівсинтетичні бібліотеки, отримані з (наївних або імунних) бібліотек V_HH, як-от бібліотеки VhH, отримані з (наївних або імунних) бібліотек V_HH, за допомогою таких методів, як випадковий мутагенез та/або перетасування CDR, як, наприклад, описано в WO 00/43507.

В деяких варіантах реалізації цього винаходу sdAb отримують зі звичайних чотириланцюгових антитіл. Див., наприклад, EP 0 368 684, Ward et al. (Nature 1 989 Oct. 12; 341 (6242): 544-6), Holt et al., Trends Biotechnol., 2003, 21(11): 484-490; WO 06/030220; и WO 06/003388.

2. Антигени

Антиген (и), що є мішенню CAR за цим винаходом, являє собою молекули клітинної поверхні. Зв'язуючі фрагменти (як-от sdAb) можна вибрати для розпізнавання антигену, який функціонує як маркер клітинної поверхні на клітинах-мішенях, асоційованих з конкретним захворюванням. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антиген (наприклад, перший антиген та/або другий антиген) є пухлинним антигеном. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультиспецифічні CAR націлені на два або більшу кількість пухлинних антигенів. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пухлинний антиген асоційований з В-клітинною малігнізацією. Пухлини експресують ряд білків, які можуть виступати в якості антигену-мішені для імунної відповіді, зокрема імунних відповідей, опосередкованих Т-клітинами. Антигенами-мішенями для CAR, можуть бути антигени, які експресуються на одній ураженій клітині, або антигени, які експресуються на різних клітинах, кожна з яких сприяє розвитку захворювання. Антигени-мішені для CAR можуть безпосередньо або опосередковано брати участь у патогенезі захворювань.

Пухлинні антигени являють собою білки, які продукуються пухлинними клітинами і можуть викликати імунну відповідь, зокрема імунні відповіді, опосередковувані Т-клітинами. Вибір антигену-мішені за цим винаходом буде залежати від конкретного типу раку, що підлягає лікуванню. Типові пухлинні антигени включають в себе, наприклад, гліома-асоційований антиген, карциноембріональний антиген (CEA), β-хоріонічний гонадотропін людини, альфафтопротеін (AFP), лектин-реактивний AFP, тиреоглобулін, RAGE-1, MN-CAIX, зворотну транскриптазу теломерази людини, RU1, RU2 (AS), кишкову карбоксиестеразу, mut hsp70-2, M-CSF, простазу, простатспецифічний антиген (PSA), PAP, NY-ESO-1, LAGE-la, p53, простеїн,

PSMA, HER2/neu, сурвівін і теломеразу, пухлинний антиген-1 карциноми передміхурової залози (PCTA-1), MAGE, ELF2M, нейтрофільну еластазу, ефрін B2, CD22, інсуліновий фактор росту (IGF) -I, IGF-II, рецептор IGF-I і мезотелін.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пухлинний антиген містить один або більшу кількість антигенних епітопів, асоційованих із злоякісною пухлиною. Злоякісні пухлини експресують ряд білків, які можуть виступати в якості антигенів-мішеней для імунної атаки. Ці молекули включають в себе, але не обмежуються ними, тканиноспецифічні антигени, як-от MART-1, тирозиназа gp100 при меланомі і простатична кисла фосфатаза (PAP) і простат-специфічний антиген (PSA) при раку передміхурової залози. Інші молекули-мішені належать до групи пов'язаних із трансформацією молекул, наприклад, онкоген HER2/Neu/ErbB-2. Ще одна група цільових антигенів - це онкофетальні антигени, як-от карциноембріональний антиген (CEA). При B-клітинній лімфомі пухлиноспецифічний ідіотипний імуноглобулін являє собою по суті пухлиноспецифічний імуноглобуліновий антиген, який є унікальним для кожної пухлини. Антигени диференціювання B-клітин, як-от CD 19, CD20 і CD37, є кандидатами для застосування в якості антигенів-мішеней при B-клітинній лімфомі.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пухлинний антиген є пухлиноспецифічним антигеном (TSA) або пухлиноасоційованим антигеном (TAA). TSA є унікальним для пухлинних клітин і не зустрічається на інших клітинах в організмі. TAA-асоційований антиген не є унікальним для пухлинної клітини, а, навпаки, експресується на нормальній клітині в умовах, які не викликають стан імунологічної толерантності до антигену. Експресія антигену на пухлині може відбуватися в умовах, які дозволяють імунній системі реагувати на антиген. TAA можуть бути антигенами, які експресуються на нормальних клітинах в період розвитку плоду, коли імунна система є незрілою і нездатна реагувати, або вони можуть бути антигенами, які зазвичай присутні в надзвичайно низьких рівнях на нормальних клітинах, але які експресуються в значно більш високих рівнях на пухлинних клітинах.

Необмежувальні приклади антигенів TSA або TAA включають в себе наступні: диференціювальні антигени, як-от MART-1/MelanA (MART-I), gp 100 (Pmel 17), тирозиназа, TRP-1, TRP-2 іпухлиноспецифічні мультилокальні антигени, як-от MAGE-1, MAGE-3, B AGE, GAGE-1, GAGE-2, p15; надмірно експресовані ембріональні антигени, як-от CEA; надмірно експресовані онкогени і мутовані гени-супресори пухлинного росту, як-от p53, Ras, HER2/neu; унікальні пухлинні антигени, що виникають в результаті хромосомних транслокацій; як-от BCR-ABL, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR; і вірусні антигени, як-от антиген EBVA вірусу Епштейна-Барр та антигени вірусу папіломи людини (HPV) E6 і E7. Інші великі білкові антигени включають в себе TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, RAGE, NY-ESO, pl85erbB2, pl80erbB-3, c-met, nm-23HI, PSA, TAG-72, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17. 1, NuMa, K-ras, бета-катенін, CDK4, Mum-1, pl5, pl6, 43-9F, 5T4, 791Tgp72, альфа-фетопротеїн, бета-HCG, BCA225, BTAA, CA 125, CA 15-3 \ CA 27. 29\BCAA, CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, CD68\P1, CO-029, FGF-5, G250, Ga733\ EpCAM, HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, M0V18, NB/ 70K, NY-CO-1, RCAS 1, SDCCAG16, TA-90\Mac-2 зв'язуючий білок/ C-асоційований білок циклофілін, TAAL6, TAG72, TLP і TPS.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу антиген (як-от перший антиген та/або другий антиген) вибирають з групи, що складається з CD 19, CD20, CD22, CD33, CD38, BCMA, CS1, ROR1, GPC3, CD123, IL-13R, CD138, c-Met, EGFRvIII, GD-2, NY-ESO-1, MAGE A3 і гліколіпіду F77.

3. Пептидні лінкери

Різні зв'язуючі фрагменти (як-от sdAb) в мультиспецифічних або мультивалентних CAR, описаних в цьому документі, можуть бути злиті один з одним за допомогою пептидних лінкерів. У деяких варіантах реалізації цього винаходу зв'язуючі фрагменти (як-от sdAb) є безпосередньо злитими один з одним без будь-яких пептидних лінкерів. Пептидні лінкери, що з'єднують різні зв'язуючі фрагменти (як-от sdAb), можуть бути однаковими або різними. Різні домени CAR також можуть бути злиті один з одним за допомогою пептидних лінкерів.

Кожен пептидний лінкер в CAR може мати однакову або різну довжину та/або послідовність в залежності від структурних та/або функціональних особливостей sdAb та/або різних доменів. Кожний пептидний лінкер можна вибрати і оптимізувати незалежно. Довжина, ступінь гнучкості і чи інші властивості пептидного лінкера (-ів), застосованого в CAR, можуть спричиняти певний вплив на властивості, включаючи, але не обмежуючись ними, афінність, специфічність або авідність щодо одного або більшої кількості конкретних антигенів або епітопів. Наприклад, можна вибрати більш довгі пептидні лінкери щоб уникнути стеричної невідповідності між двома розташованими поруч доменами. Наприклад, в мультивалентному або мультиспецифічному CAR за цим винаходом, який містить sdAb, направлені проти мультимерного антигену, прийнятніше, якщо довжина і гнучкість пептидних лінкерів такі, що дозволяє кожному sdAb в

мультивалентному CAR зв'язуватися з антигенною детермінантою на кожній з субодиниць мультимера. У деяких варіантах реалізації цього винаходу короткий пептидний лінкер може бути розташований між трансмембраним доменом і внутрішньоклітинним сигнальним доменом CAR. У певному варіанті реалізації цього винаходу пептидний лінкер містить гнучкі залишки (як-от гліцин і серии), в результаті чого розташовані поруч домени вільно переміщаються відносно один одного. Наприклад, гліцин-сериновий дублет може бути придатним пептидним лінкером.

Пептидний лінкер може мати будь-яку придатну довжину. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер має довжину щонайменше близько 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 75, 100 або більшу кількість амінокислот. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж близько 100, 75, 50, 40, 35, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5 або менше амінокислот. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер має довжину від близько 1 амінокислоти до близько 10 амінокислот, від близько 1 амінокислоти до близько 20 амінокислот, від близько 1 амінокислоти до близько 30 амінокислот, від близько 5 амінокислот до близько 15 амінокислот, від близько 10 амінокислот до близько 25 амінокислот, від близько 5 амінокислот до близько 30 амінокислот, від близько 10 амінокислот до близько 30 амінокислот, від близько 30 амінокислот до близько 50 амінокислот, від близько 50 амінокислот до близько 100 амінокислот або від близько 1 амінокислоти до близько 100 амінокислот.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер може мати послідовність, що зустрічається в природі або послідовність, що не зустрічається в природі в природі. Наприклад, в якості лінкера можна застосувати послідовність, отриману з шарнірної ділянки антитіл тільки з важким ланцюгом. Див., наприклад, WO1996/34103. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер є гнучким лінкером. Приклади гнучких лінкерів включають гліцінові полімери $(G)_n$, гліцин-серинові полімери (включаючи, наприклад, $(GS)_n$, $(GSGGS)_n$, $(GGGS)_n$, і $(GGGGS)_n$, де n є цілим числом, щонайменше, один), гліцин-аланінові полімери, аланін-серинові полімери та інші гнучкі лінкери, відомі в цій галузі техніки. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність GGGGS (SEQ ID NO: 208), $(GGGGS)_2$ (SEQ ID NO: 209), $(GGGS)_4$ (SEQ ID NO: 210), GGGGSGGGGSGGGGGGSGSGGGGS (SEQ ID NO: 211), GGGGSGGGGSGGGGGGSGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 212), $(GGGGS)_3$ (SEQ ID NO: 213), $(GGGGS)_4$ (SEQ ID NO: 214), или $(GGGGS)_3$ (SEQ ID NO: 215).

Трансмембранний домен

CAR за цим винаходом містять трансмембранний домен, який може бути безпосередньо або опосередковано приєднаний до позаклітинного антигензв'язуючого домену. Трансмембранний домен можна отримати або з природного, або з синтетичного джерела. В цьому контексті термін "трансмембранний домен" відноситься до будь-якої білкової структури, яка є термодинамічно стабільною в клітинній мембрані, прийнятніше в мембрані еукаріотичної клітини. Трансмембранні домени, придатні для застосування в CAR, описаних в цьому документі, можна отримати з природного білка. В альтернативному варіанті він може бути сегментом синтетичного, білка, що не зустрічається в природі, наприклад, гідрофобним білковим сегментом, який є термодинамічно стабільним в клітинній мембрані.

Трансмембранні домени класифікуються на основі тривимірної структури трансмембранного домену. Наприклад, трансмембранні домени можуть утворювати альфа-спіраль, комплекс з більш ніж однієї альфа-спіралі, бета-барель або будь-яку іншу стабільну структуру, здатну охоплювати подвійний фосфоліпідний шар клітини. Крім того, трансмембранні домени можуть також або в альтернативному варіанті класифікуватися на основі топології трансмембранного домену, включаючи кількість проходів, які трансмембранний домен здійснює через мембрану, і орієнтацію білка. Наприклад, однопрохідні мембранні білки один раз перетинають клітинну мембрану, а багатопрохідні мембранні білки перетинають клітинну мембрану щонайменше двічі (наприклад, 2, 3, 4, 5, 6, 7 або більшу кількість разів). Мембранні білки можуть бути визначені як тип I, тип II або тип III в залежності від топології їх кінців і сегмента (ів), що проходять через мембрану, по відношенню до внутрішньої і зовнішньої поверхні клітини. Мембранні білки типу I мають одну трансмембранну ділянку і орієнтовані так, що Текінець білка знаходиться на позаклітинній стороні подвійного ліпідного шару клітини, а С-кінець білка знаходиться на цитоплазматичній стороні. Мембранні білки типу II також мають одну трансмембранну ділянку, але вони орієнтовані так, що С-кінець білка знаходиться на позаклітинній стороні подвійного ліпідного шару клітини, а N-кінець білка знаходиться на цитоплазматичній стороні. Мембранні білки типу III мають безліч трансмембранних сегментів і можуть бути додатково підкласифіковані на основі кількості трансмембранних сегментів і розташування N- і С-кінців.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен CAR, описаний в цьому документі, є похідним від однопрохідного мембранного білка типу I. У деяких варіантах

реалізації цього винаходу трансмембранні домени, які є похідними від багатопрохідних мембранних білків, також можуть бути придатними для застосування в CAR, описаних в цьому документі. Багатопрохідні мембранні білки можуть містити складні (щонайменше 2, 3, 4, 5, 6, 7 чи більше) альфа-спіралі або структуру бета-листа. Прийнятніше, якщо N-кінець і С-кінець багатопрохідного мембранного білка будуть присутні на протилежних сторонах подвійного ліпідного шару, наприклад, N-кінець білка присутній на цитоплазматичній стороні подвійного ліпідного шару, а С-кінець білка присутній на позаклітинній стороні.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен CAR містить трансмембранний домен, вибраний з групи, що складається з трансмембранного домену альфа-, бета- або дзета-ланцюга рецептора Т-клітини, CD28, CD3 епсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD1 la, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), CD 160, CD 19, IL-2R бета, IL-2R гамма, IL-7R a, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD1 Id, ITGAE, CD 103, ITGAL, CD1 la, LFA-1, ITGAM, CD1 lb, ITGAX, CD1 lc, ITGB1, CD29, ITGB2, CD 18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), P SGL1, CDIOO (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Lyl08), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD 162), LTBR, PAG / Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D, та/або NKG2C. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8a, CD4, CD28, CD 137, CD80, CD86, CD152 I PD1.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен є похідним від CD28. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен являє собою трансмембранний домен CD28, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 194. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен CD28 кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 203.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен є похідним від CD8a. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен являє собою трансмембранний домен CD8a, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 193. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен CD8 кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 202.

Трансмембранні домени, придатні для застосування в CAR, описаних в цьому документі, можуть також містити щонайменше частину сегмента синтетичного білка, що не зустрічається в природі. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен являє собою синтетичну альфа-спіраль, що не зустрічається в природі, або бета-лист. У деяких варіантах реалізації цього винаходу білковий сегмент становить щонайменше близько 20 амінокислот, наприклад, щонайменше 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 або більшу кількість амінокислот. Приклади синтетичних трансмембранних доменів відомі в цій галузі техніки, наприклад, описані в патенті США № 7052906 B1 і публікації PCT № WO 2000/032776 A2, відповідні описи яких включені в цей документ за допомогою посилання.

Трансмембранний домен може містити трансмембранну ділянку і цитоплазматичну ділянку, розташовану на С-кінцевій стороні трансмембранного домену. Цитоплазматична ділянка трансмембранного домену може містити три або більшу кількість амінокислот і, в деяких варіантах реалізації, допомагає орієнтувати трансмембранний домен у подвійному ліпідному шарі. У деяких варіантах реалізації цього винаходу в трансмембранній ділянці трансмембранного домену присутні один або більша кількість залишків цистеїну. У деяких варіантах реалізації цього винаходу в цитоплазматичній ділянці трансмембранного домену присутні один або більша кількість залишків цистеїну. У деяких варіантах реалізації цього винаходу цитоплазматична ділянка трансмембранного домену містить позитивно заряджені амінокислоти. У деяких варіантах реалізації цього винаходу цитоплазматична ділянка трансмембранного домену містить амінокислоти аргінін, серин і лізин.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранна ділянка трансмембранного домену містить гідрофобні амінокислотні залишки. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен CAR містить штучну гідрофобну послідовність. Наприклад, триплет фенілаланіну, триптофану і валіну може бути присутнім на С-кінці трансмембранного домену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранна ділянка містить в основному гідрофобні амінокислотні залишки, як-от аланін, лейцин, ізолейцин, метіонін, фенілаланін, триптофан або валін. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранна ділянка є гідрофобною. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранна ділянка містить полі-лейцин-аланінову послідовність. Гідрофобність, або гідрофобні або гідрофільні властивості

білка або білкового сегмента можна оцінити за допомогою будь-якого способу, відомого в цій галузі техніки, наприклад, за допомогою аналізу гідрофобності Kyte і Doolittle.

Внутрішньоклітинний сигнальний домен

CAR за цим винаходом містять внутрішньоклітинний сигнальний домен. Внутрішньоклітинний сигнальний домен відповідає за активацію щонайменше однієї з нормальних ефекторних функцій імунної ефекторної клітини, що експресує CAR. Термін "ефекторна функція" відноситься до спеціалізованої функції клітини. Ефекторною функцією Т-клітини, наприклад, може бути цитоліитична активність або хелперна активність, включаючи секрецію цитокінів. Таким чином, термін "цитоплазматична сигнальна ділянка" відноситься до частини білка, яка трансдукує сигнал ефекторної функції і направляє клітину для виконання спеціалізованої функції. Незважаючи на те, що зазвичай може застосовуватися весь цитоплазматичний сигнальний домен, у багатьох випадках немає необхідності застосовувати весь ланцюг. Тією ж мірою, в якій застосовується усічена частина цитоплазматичного сигнального домену, така усічена частина може застосовуватися замість інтактного ланцюга до тих пір, поки вона трансдукує сигнал ефекторної функції. Таким чином, термін "цитоплазматичний сигнальний домен" включає будь-яку усічену частину домену цитоплазматичної сигналізації, достатню для трансдукції сигналу ефекторної функції.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR містить внутрішньоклітинний сигнальний домен, що містить по суті первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини. Термін "первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен" відноситься до цитоплазматичної сигнальної послідовності, яка функціонує стимулюючим чином для індукування імунних ефекторних функцій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен містить сигнальний мотив, відомий як імунорецепторний тирозиновий активуючий мотив, або ITAM. В цьому контексті "ITAM" являє собою консервативний білковий мотив, який зазвичай присутній в хвостовій частині сигнальних молекул, що експресуються у багатьох імунних клітинах. Мотив може містити два повтори амінокислотної послідовності YxxL/I, розділених 6-8 амінокислотами, при цьому кожен χ незалежно являє собою будь-яку амінокислоту, яка продукує консервативний мотив YYxxL/Ix(6-8)YxxL/I. ITAM в сигнальних молекулах є важливими для сигнальної трансдукції всередині клітини, яка опосередковується, щонайменше частково, фосфорилюванням залишків тирозину в ITAM після активації сигнальної молекули. ITAM можуть також функціонувати як ділянки стикування для інших білків, що беруть участь в сигнальних шляхах. Типові ITAM-вмісті первинні цитоплазматичні сигнальні послідовності включають в себе ті, які є похідними від CD3ζ, FcR-гамма (FCER1G), FcR-бета (Fc епсилон Rib), CD3-гамма, CD3-дельта, CD3-епсилон, CD5, CD22, CD79a, CD79b і CD66d.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від ОО3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить цитоплазматичний сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є цитоплазматичним сигнальним доменом дикого типу CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен дикого типу містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 197. У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є функціональним мутантом цитоплазматичного сигнального домену CD3ζ, що містить одну або більшу кількість мутацій, як-от Q65K. У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен мутантного CD3ζ містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 198. У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 206 або 207.

Костимулюючий сигнальний домен

Багато імунних ефекторних клітин потребують костимуляції, крім стимуляції антигенспеціфічного сигналу, для індукування проліферації, диференціювання і виживання клітин, а також для активації ефекторних функцій клітини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR містить щонайменше один костимулюючий сигнальний домен. В цьому контексті термін "костимулюючий сигнальний домен" відноситься щонайменше до частини білка, яка опосередковує трансдукцію сигналу всередині клітини, щоб індукувати імунну відповідь, наприклад, ефекторну функцію. Костимулюючий сигнальний домен химерного рецептора, описаний в цьому документі, може бути цитоплазматичним сигнальним доменом з костимулюючого білка, який трансдукує сигнал і модулює реакції, опосередковані імунними

клітинами, як-от Т-клітини, NK-клітини, макрофаги, нейтрофіли або еозинофіли. "Костимулюючий сигнальний домен" може бути цитоплазматичною частиною костимулюючої молекули. Термін "костимулююча молекула" відноситься до спорідненого зв'язуючого партнера в імунній клітині (як-от Т-клітині), яка специфічно зв'язується з костимулюючим лігандом, тим самим опосередковуючи костимулюючу відповідь імунною клітиною, як-от, але не обмежуючись цим, проліферацію і виживання.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен містить один костимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить два або більшу кількість (наприклад, 2, 3, 4 і більше) костимулюючих сигнальних доменів. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить два або більшу кількість однакових костимулюючих сигнальних доменів, наприклад, дві копії костимулюючого сигнального домену CD28. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить два або більшу кількість однакових костимулюючих сигнальних доменів з різних костимулюючих білків, як-от будь-які два або більшу кількість костимулюючих білків, описаних в цьому документі. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен (як-от цитоплазматичний сигнальний домен CD3ζ) і один або більшу кількість костимулюючих сигнальних доменів. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість костимулюючих сигнальних доменів і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен (як-от цитоплазматичний сигнальний домен CD3ζ) є злитими один з одним за допомогою необов'язкових пептидних лінкерів. Первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен і один або більша кількість костимулюючих сигнальних доменів можуть бути розташовані в будь-якому придатному порядку. У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більша кількість костимулюючих сигнальних доменів розташовані між трансмембраним доменом і первинним внутрішньоклітинним сигнальним доменом (як-от цитоплазматичний сигнальний домен CD3ζ). Безліч костимулюючих сигнальних доменів можуть володіти адитивними або синергічними стимулюючими ефектами.

Активація костимулюючого сигнального домену в клітині-хазяїні (наприклад, в імунній клітині) може індукувати клітину до підвищення або зниження продукції і секреції цитокінів, фагоцитарні властивості, проліферацію, диференціювання, виживання та/або цитотоксичність. Костимулюючий сигнальний домен будь-якої костимулюючої молекули може бути сумісний для застосування в CAR, описаних в цьому документі. Тип(и) костимулюючого сигнального домену вибирають на основі таких факторів, як тип імунних ефекторних клітин, в яких будуть експресуватися ефекторні молекули (наприклад, Т-клітини, NK-клітини, макрофаги, нейтрофіли або еозинофіли), і бажаної імунної ефекторної функції (наприклад, ефект АЗКЦ). Прикладами костимулюючих сигнальних доменів для застосування в CAR можуть бути цитоплазматичний сигнальний домен костимулюючих білків, включаючи, але не обмежуючись ними, представників сімейства B7/CD28 (наприклад, B7-1/CD80, B7-2/CD86, B7-H1/PD-L1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, B7-H7, BTLA/CD272, CD28, CTLA-4, Gi24/VISTA/B7-H5, ICOS/CD278, PD-1, PD-L2/B7-DC, и PDCD6); представників суперсімейства TNF (наприклад, 4-1BB/TNFSF9/CD137, 4-1BB mraHfl/TNFSF9, BAFF/BLyS/TNFSF13B, BAFF R/TNFRSF13C, CD27/TNFRSF7, CD27 ліганд/TN№8P7, CD30/TNFRSF8, CD30 mraHfl/TNFSF8, CD40/TNFRSF5, CD40/TNFSF5, CD40 ліганд/TNFSFS, DR3/TNFRSF25, GITR/TNFRSF18, GITR ліганд/TN№8P18, HVEM/TNFRSF14, LIGHT/TNFSF14, лімфотоксин-альфа/ТИР-бета, OX40/TNFRSF4, OX40 лігандЛN№8P4, RELT/TNFRSF19L, TACI/TNFRSF13B, TL1A/TNFSF15, TNF-альфа, и TNF RII/TNFRSF1B); представників сімейства SLAM (наприклад, 2B4/CD244/SLAMF4, BLAME/SLAMF8, CD2, CD2F-10/SLAMF9, CD48/SLAMF2, CD58/LFA-3, CD84/SLAMF5, CD229/SLAMF3, CRACC/SLAMF7, NTB-A/SLAMF6, и SLAM/CD 150); і будь-які інші стимулюючі молекули, як-от CD2, CD7, CD53, CD82/Kai-1, CD90/Thyl, CD96, CD160, CD200, CD300a/LMIRl, HLA Class I, HLA-DR, ікарос, інтегрин альфа 4/CD49d, інтегрин альфа 4 бета 1, інтегрин альфа 4 бета 7/LPAM-l, LAG-3, TCL1 A, TCL1B, CRTAM, DAP12, дектин-1/СЬЕС7А, DPPIV/CD26, EphB6, TIM-1/KIM-l/HAVCR, TIM-4, TSLP, TSLP R, лімфоцитарний функціональний антиген-1 (LFA-1), а також NKG2C.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу один або більшу кількість костимулюючих сигнальних доменів вибирають з групи, що складається з CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, CD3, лимфоцитарного функціонального антигену-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3 і лігандів, які специфічно зв'язуються з CD83.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен CAR за цим винаходом містить костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD28. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить

цитоплазматичний сигнальний домен CD3C, і костимулюючий сигнальний домен CD28. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен CD28, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 195. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен CD28 кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 204.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен CAR за цим винаходом містить костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD 137 (тобто, 4-1BB). У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить цитоплазматичний сигнальний домен CD3ζ і костимулюючий сигнальний домен CD 137. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен CD 137, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 196. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен CD 137 кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 205.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен CAR за цим винаходом містить костимулюючий сигнальний домен CD28 і костимулюючий сигнальний домен CD 137. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить цитоплазматичний сигнальний домен CD3C, , костимулюючий сигнальний домен CD28 і костимулюючий сигнальний домен CD 137. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить поліпептид, що містить від N-кінця до C-кінця: костимулюючий сигнальний домен CD28, костимулюючий сигнальний домен CD137 і цитоплазматичний сигнальний домен CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен CD28, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 195. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен CD 137, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 196.

Крім того, в межах об'єму цього винаходу пропонуються варіанти будь-якого з костимулюючих сигнальних доменів, описані в цьому документі, що забезпечують модулювання костимулюючим сигнальним доменом імунної відповіді імунної клітини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючі сигнальні домени містять до 10 змін амінокислотних залишків (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5 або 8) в порівнянні з аналогом дикого типу. Такі костимулюючі сигнальні домени, які містять один або більшу кількість змін амінокислот, можуть згадуватися як варіанти. Мутація амінокислотних залишків костимулюючого сигнального домену може призводити до підвищення трансдукції сигналів і посилення стимуляції імунних відповідей в порівнянні з костимулюючими сигнальними доменами, які не містять мутації. Мутація амінокислотних залишків костимулюючого сигнального домену може призводити до зниження трансдукції сигналів і ослаблення стимуляції імунних відповідей в порівнянні з костимулюючими сигнальними доменами, які не містять мутації.

Шарнірна ділянка

CAR за цим винаходом можуть містити шарнірний домен, який розташований між позаклітинним антигензв'язуючим доменом і трансмембраним доменом. Шарнірний домен являє собою сегмент амінокислот, який зазвичай знаходиться між двома доменами білка і може забезпечувати гнучкість білка і переміщення одного або обох доменів відносно один одного. Можна застосовувати будь-яку амінокислотну послідовність, яка забезпечує таку гнучкість і переміщення позаклітинного антигензв'язуючого домену щодо трансмембранного домену ефекторної молекули.

Шарнірний домен може містити близько 10-100 амінокислот, наприклад, будь-яку кількість з 15-75 амінокислот, 20-50 амінокислот або 30-60 амінокислот. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен може має довжину щонайменше близько 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70 або 75 амінокислот.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен являє собою шарнірний домен білка, який зустрічається в природі. Шарнірні домени будь-якого білка, відомі в цій галузі техніки, включають шарнірний домен, який є придатним для застосування в описаних в цьому документі химерних рецепторах. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен являє собою, щонайменше, частину шарнірного домену білка, який зустрічається в природі і забезпечує гнучкість для химерного рецептора. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен є похідним від CD8α. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен являє собою частину шарнірного домену CD8α, наприклад, фрагмент, що містить щонайменше 15 (наприклад, 20, 25, 30, 35 або 40) послідовних амінокислот шарнірного домену CD8α.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен CD8α містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 192. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен CD8α кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 201.

Шарнірні домени антитіл, як-от антитіл IgG, IgA, IgM, IgE або IgD, також є придатними для застосування в pH-залежних химерних рецепторних системах, описаних в цьому документі. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен являє собою шарнірний домен, який з'єднує константні домени CH1 і CH2 антитіла. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен є доменом антитіла і містить шарнірний домен антитіла і одну або більшу кількість константних ділянок антитіла. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен містить шарнірний домен антитіла і константну ділянку CH3 антитіла. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен містить шарнірний домен антитіла і константні ділянки CH2 і CH3 антитіла. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антитіло являє собою антитіло IgG, IgA, IgM, IgE або IgD. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антитіло являє собою антитіло IgG. У деяких варіантах реалізації цього винаходу антитіло являє собою антитіло IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірна ділянка містить шарнірну ділянку і константні ділянки CH2 і CH3 антитіла IgG1. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірна ділянка містить шарнірну ділянку і константну ділянку CH3 антитіла IgG1.

Пептиди, що не зустрічаються в природі, також можуть застосовуватися в якості шарнірних доменів для химерних рецепторів, описаних в цьому документі. У деяких варіантах реалізації цього винаходу шарнірний домен між С-кінцем позаклітинного лігандзв'язуючого домену Fc-рецептора і N-кінцем трансмембранного домену являє собою пептидний лінкер, як-от (GxS) n-лінкер, де x і n незалежно можуть являти собою ціле число від 3 до 12, включаючи 3,4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 і більше.

Сигнальний пептид

CAR за цим винаходом може містити сигнальний пептид (також відомий як сигнальна послідовність) на N-кінці поліпептиду. Як правило, сигнальні пептиди являють собою послідовності пептидів, які націлюють поліпептид на необхідну ділянку в клітині. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сигнальний пептид націлює ефекторну молекулу на секреторний шлях клітини і забезпечує інтеграцію і закріплення ефекторної молекули в подвійному ліпідному шарі. Сигнальні пептиди, включаючи сигнальні послідовності природних або синтетичних білків, сигнальні послідовності, що не зустрічаються в природі, які придатні для застосування в CAR, описаних в цьому документі, будуть знайомі фахівцюв цій галузі техніки. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сигнальний пептид є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8α, ГМКСФ-рецептора α і важкого ланцюга IgG1. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сигнальний пептид є похідним від CD8α. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сигнальний пептид CD8α містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 191. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сигнальний пептид CD8α кодується нуклеотидною послідовністю SEQ ID NO: 199 або 200.

IV. Сконструйовані імунні ефекторні клітини.

Додатково в цьому винаході пропонуються клітини-хазяїни (наприклад, імунні ефекторні клітини), що містять будь-який з CAR, описаних в цьому документі.

Таким чином, в деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент, який специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент, який специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше анти-BCMA sdAb, яке специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і друге анти-BCMA sdAb, яке специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопа. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb та/або друге анти-BCMA sdAb є верблюжим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу перше анти-BCMA і друге анти-BCMA є злитими один з одним за допомогою пептидного зв'язку або пептидного лінкеру. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептидний лінкер має довжину не більше ніж близько 50 (наприклад, не більше ніж близько 35,

25, 20, 15, 10 або 5) амінокислот. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансмембранний домен вибирають з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (наприклад, Т-клітини). У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен є похідним від костимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, ICOS, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7 -H3, лігандів CD83 та їх комбінацій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний CAR додатково містить шарнірний домен (як-от шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу мультивалентний CAR додатково містить сигнальний пептид (як-от сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах реалізації цього винаходу поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина являє собою Т-клітину, NK-клітину, мононуклеарну клітину периферичної крові (МКПК), гемопоетичну стовбурову клітину, плюрипотентну стовбурову клітину або ембріональну стовбурову клітину. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є алогенною.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується сконструйована імунна ефекторна клітина (як-от Т-клітина), що містить BCMA CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому анти-BCMA sdAb містить будь-який з наступних елементів: (1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77; (2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; (3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79; (4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80; (5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81; (6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 82; (7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 83; (8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 84; (9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85; (10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86; (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87; (12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 88; (13) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 89; (14) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 90; (15) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 91; (16) CDR1, що містить

амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 92; (17) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93; (18) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 94; (19) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 95; (20) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96; (21) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 97; (22) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 98; (23) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 99; (24) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 100; (25) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 101; (26) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 102; (27) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 103; (28) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 104; (29) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 105; (30) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 106; (31) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 107; (32) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 108; (33) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 109; (34) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 110; (35) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 111; (36) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 112; (37) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 113; або (38) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 114. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є верблюжим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 115-152. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини (наприклад, Т-клітини). У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу внутрішньоклітинний сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен. У деяких варіантах реалізації цього винаходу костимулюючий сигнальний домен є похідним від костимулюючої молекули, вибраної з групи,

що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, ICOS, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7 -H3, лігандів CD83 та їх комбінацій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR додатково містить шарнірний домен (як-от шарнірний домен CD8α), розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену. У деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR додатково містить сигнальний пептид (як-от сигнальний пептид CD8α), розташований на N-кінці поліпептиду. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вказаний поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD28, перший костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD28, другий костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD 137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу поліпептид містить від N-кінця до С-кінця: сигнальний пептид CD8α, позаклітинний антигензв'язуючий домен, шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD8α, костимулюючий сигнальний домен, похідний від CD 137, і первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен, похідний від CD3ζ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 216-256, 298-335. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина являє собою Т-клітину, NK-клітину, мононуклеарну клітину периферичної крові (МКПК), гемопоетичну стовбурову клітину, плюрипотентну стовбурову клітину або ембріональну стовбурову клітину. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є алогенною.

У цьому винаході також пропонуються сконструйовані імунні ефекторні клітини, що містять (або експресують) два або більшу кількість різних CAR. Будь-які два або більша кількість з CAR, описаних в цьому документі, можуть експресуватися в комбінації. CAR можуть націлюватися на різні антигени, тим самим забезпечуючи синергічні або адитивні ефекти. Оскільки однодоменні антитіла в позаклітинних антигензв'язуючих доменах CAR мають тільки окремі варіабельні ланцюги антигену (наприклад, важкі ланцюги), для таких клітин, що експресують CAR, не притаманне помилкове спарювання варіабельних ланцюгів, що продемонстровано в сконструйованих імунних ефекторних клітинах, які коекспресують два або більшу кількість CAR на основі scFv. Типові сконструйовані імунні ефекторні клітини, які коекспресують два CAR на основі VHH, проілюстровані на ФІГ. 15E. Фахівцю в цій галузі техніки буде зрозуміло, що CAR на основі інших sdAb або CAR, що мають інші структури, як описано в цьому документі, можуть бути співекспресованими в сконструйованих імунних ефекторних клітинах. Два або більша кількість CAR можуть бути закодовані на одному і тому ж векторі або на різних векторах.

Сконструйована імунна ефекторна клітина може додатково експресувати один або більшу кількість терапевтичних білків та/або імуномодуляторів, як-от інгібітори імунної- контрольної точки. Див., наприклад, міжнародну заявку на патент №№ PCT/CN2016/073489 и PCT/CN2016/087855, які включені в цей документ за допомогою посилання в повному об'ємі.

Вектори

В одному аспекті цього винаходу пропонуються вектори для клонування і експресії будь-якого одного з CAR, описаних в цьому документі. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор є придатним для реплікації та інтеграції в еукаріотичних клітинах, як-от клітини ссавців. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою вірусний вектор. Приклади векторів включають, але не обмежуються ними, аденовірусні вектори, адено-асоційовані вірусні вектори, лентивірусний вектор, ретровірусні вектори, вектор вірусу вісповакцини, герпесвірусний вектор та їх похідні. Технологія вірусних векторів добре відома в цій галузі технікии і описана, наприклад, в посібнику Sambrook et al. (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York), і в інших посібниках з вірусології та молекулярної біології.

Розроблено ряд вірусних систем для перенесення генів у клітини ссавців. Наприклад, ретровіруси забезпечують зручну платформу для систем доставки генів. Гетерологічну нуклеїнову кислоту можна вставити у вектор і упакувати в ретровірусні частинки за допомогою методів, відомих в цій галузі техніки. Рекомбінантний вірус потім можна виділити і помістити в сконструйовану клітку ссавця in vitro або ex vivo. У цій галузі техніки відомий ряд ретровірусних систем. У деяких варіантах реалізації цього винаходу застосовують аденовірусні вектори. У цій галузі техніки відомий ряд аденовірусних векторів. У деяких варіантах реалізації цього винаходу застосовують лентивірусні вектори. У деяких варіантах реалізації цього винаходу застосовують лентивірусні вектори, які самоінактивуються. Наприклад, лентивірусні вектори, які самоінактивуються і несуть послідовність, що кодує імуномодулятор (наприклад, інгібітор

імунної контрольної точки), та/або лентивірусні вектори, які самоінактивуються і несуть химерні антигенні рецептори (CAR), можуть бути упаковані відповідно до протоколів, відомих в цій галузі техніки. Отримані лентивірусні вектори можна застосовувати для трансдукції клітини ссавців (наприклад, первинних Т-клітин людини) за допомогою способів, відомих в цій галузі техніки. Вектори, отримані з ретровірусів, як-от лентивірус, є придатними інструментами для досягнення тривалого перенесення генів, оскільки вони забезпечують тривалу стабільну інтеграцію трансгену і його поширення в клітинах потомства. Лентивірусні вектори також мають низьку імуногенність і можуть трансдукувати клітини, які не проліферують.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою невірусний вектор. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою транспозон, як-от транспозонова система "Спляча красуня" (SB), або транспозонова система PiggyBac. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою невірусний вектор на основі полімеру, включаючи, наприклад, полі(молочно-ко-гліколеву кислоту) (PLGA) і полімолочну кислоту (PLA), полі(етилен-імін) (PEI) і дендримери. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою невірусний вектор на основі катіон-ліпідів, як-от катіонна ліпосома, ліпідна наноемульсія і тверда ліпідна наночастинка (SLN). У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор являє собою невірусний вектор на основі пептиду, як-от полі-Ь-лізин. Будь-який з відомих невірусних векторів, придатних для редагування генома, можна застосовувати для введення нуклеїнових кислот, що кодують CAR, в сконструйовані імунні ефекторні клітини. Див., наприклад, Yin H. et al. Nature Rev. Genetics (2014) 15: 521-555; Aronovich EL et al. "The Sleeping Beauty transposon system: a non-viral vector for gene therapy. " Hum. Mol. Genet. (2011) Rl: R14-20; і Zhao S. et al. "PiggyBac transposon vectors: the tools of the human gene editing. " Transl. Lung Cancer Res. (2016) 5 (1): 120-125, що включено в цей документ за допомогою посилання. У деяких варіантах реалізації цього винаходу будь-яку одну або більшу кількість нуклеїнових кислот, що кодують CAR, вводять в сконструйовані імунні ефекторні клітини фізичним методом, включаючи, але не обмежуючись цим, електропорацію, ультразвукову порацію, фотопорацію, магнітофекцію, гідропорацію.

В деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор містить будь-яку з нуклеїнових кислот, що кодують CAR, описаний в цьому документі. Нуклеїнову кислоту можна клонувати у вектор за допомогою будь-яких способів молекулярного клонування, відомих в цій галузі техніки, включаючи, наприклад, застосування ділянок рестрикційної ендонуклеази і одного або більшої кількості маркерів, що піддаються селекції. У деяких варіантах реалізації цього винаходу нуклеїнова кислота є функціонально пов'язаною з промотором. Різновиди промоторів проаналізовані щодо експресії генів в клітинах ссавців, і будь-який з промоторів, відомих в цій галузі техніки, можна застосовувати в цьому винаході. Промотери можуть бути класифіковані на конститутивні промотори або промотори, що піддаються регуляції, як-от промотори, що піддаються індукції.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу нуклеїнова кислота, що кодує CAR, є функціонально пов'язаною з конститутивним промотором. Конститутивні промотори дозволяють гетерологічним генам (які також називаються трансгенами) конститутивно експресуватися в клітинах-хазяїнах. Типові конститутивні промотори, що розглядаються в цьому документі, включають в себе, але не обмежуються ними, промотори цитомегаловірусу (CMV), фактори елонгації-1α людини (hEF1α), промотор убіквітину С (UbiC), промотор фосфогліцерокінази (PGK), ранній промотор вірусу 40 мавп (SV40) і промотор β-актину курей у поєднанні з раннім енхансером CMV (CAGG). Ефективність таких конститутивних промоторів щодо стимулювання трансгенної експресії детально порівнювалася в багатьох дослідженнях. Наприклад, Michael С. Milone et al порівнював ефективність CMV, hEF1α, UbiC і PGK щодо стимулювання експресії CAR в первинних Т-клітинах людини і прийшов до висновку, що промотор hEF1a не тільки індукував найвищий рівень експресії трансгену, але також оптимально підтримувався в Т клітинах CD4 і CD8 людини (Molecular Therapy, 17 (8): 1453-1464 (2009)). У деяких варіантах реалізації цього винаходу нуклеїнова кислота, що кодує CAR, є функціонально пов'язаною з промотором hEF1α.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу нуклеїнова кислота, що кодує CAR, є функціонально пов'язаною з промотором, що піддається індукції. Промотори, що піддаються індукції, відносяться до категорії промоторів, що піддаються регуляції. Промотор, що піддається індукції, може бути індукованим одним або більшою кількістю станів, як-от фізичний стан, мікрооточення сконструйованої імунної ефекторної клітини або фізіологічний стан сконструйованої імунної ефекторної клітини, індуктором (тобто, індукуючим агентом) або їх комбінацією. У деяких варіантах реалізації цього винаходу індукуючий стан не індукує експресію ендогенних генів у сконструйованій клітині ссавців та/або у суб'єкта, який отримує

фармацевтичну композицію. У деяких варіантах реалізації цього винаходу індукуючий стан вибирають з групи, що складається з: індуктора, опромінення (наприклад, іонізуюче випромінювання, світло), температури (наприклад, тепло), окислювально-відновних умов, мікрооточення пухлини і стану активації сконструйованої клітини ссавців.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор також містить маркерний ген, що піддається селекції, або репортерний ген для відбору клітин, що експресують CAR, з популяції клітин-хазяїнів, трансфікованих за допомогою лентивірусних векторів. Як маркери, що піддається селекції, так і репортерні гени можуть бути фланковані відповідними регуляторними послідовностями з метою забезпечення експресії в клітинах-хазяїнах. Наприклад, вектор може містити транскрипційні і трансляційні термінатори, послідовності ініціації і промотори, придатні для регуляції експресії послідовностей нуклеїнових кислот.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор містить більш ніж одну нуклеїнову кислоту, що кодує CAR. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор містить нуклеїнову кислоту, яка містить послідовність першої нуклеїнової кислоти, що кодує перший CAR, і послідовність другої нуклеїнової кислоти, що кодує другий CAR, при цьому перша нуклеїнова кислота є функціонально пов'язаною з другою нуклеїновою кислотою за допомогою послідовності третьої нуклеїнової кислоти, що кодує пептид, який самостійно розщеплюється. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептид, який самостійно розщеплюється, вибирають з групи, що складається з T2A, P2A і F2A. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пептид T2A має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 385.

Імунні ефекторні клітини

"Імунні ефекторні клітини" являють собою імунні клітини, які можуть виконувати імунні ефекторні функції. У деяких варіантах реалізації цього винаходу імунні ефекторні клітини експресують щонайменше FcγRIII і виконують ефекторну функцію АЗКЦ. Приклади імунних ефекторних клітин, які опосередковують АЗКЦ, включають в себе мононуклеарні клітини периферичної крові (МКПК), природні клітини-кілери (NK), моноцити, цитотоксичні Т-клітини і нейтрофіли, а також еозинофіли.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу імунні ефекторні клітини являють собою Т-клітини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу Т-клітини являють собою CD4+/CD8-, CD4-/CD8+, CD4+/CD8+, CD4-/CD8- або їх комбінації. У деяких варіантах реалізації цього винаходу Т-клітини продукують IL-2, TFN, та/або TNF на фоні експресії CAR і зв'язування з клітинами-мішенями, як-от пухлинні клітини CD20 + або CD 19 +. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CD8+ Т-клітини лізують антигенспецифічні клітини-мішені на фоні експресії CAR і зв'язування з клітинами-мішенями.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу імунні ефекторні клітини являють собою NK-клітини. В інших варіантах реалізації цього винаходу імунні ефекторні клітини можуть бути широко відомими лініями клітин, наприклад, клітин NK-92.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу імунні ефекторні клітини є диференційованими від стовбурових клітин, як-от гемопоетичних стовбурових клітин, плюрипотентних стовбурових клітин, iPS або ембріональної стовбурової клітини.

Сконструйовані імунні ефекторні клітини отримують шляхом введення CAR в імунні ефекторні клітини, як-от Т-клітини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR вводять в імунні ефекторні клітини шляхом трансфекції будь-якої з виділених нуклеїнових кислот або будь-якого з векторів, описаних в розділі III. У деяких варіантах реалізації цього винаходу CAR вводять в імунні ефекторні клітини шляхом введення білків в клітинну мембрану при проходженні клітин через мікрорідинну систему, як-от CELL SQUEEZE® (див., наприклад, публікацію заявки на патент СІЛА № 20140287509).

Способи введення векторів або виділених нуклеїнових кислот в клітини ссавців добре відомі в цій галузі техніки. Описані вектори можна переносити в імунну ефекторну клітину за допомогою фізичних, хімічних або біологічних методів.

Фізичні способи введення вектора в імунну ефекторну клітину включають в себе осадження фосфатом кальцію, ліпофекцію, бомбардування частинками, мікроін'єкції, електропорацію тощо. Способи продукування клітин, що містять вектори та/або екзогенні нуклеїнові кислоти, добре відомі в цій галузі техніки. Див., наприклад, Sambrook et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York. У деяких варіантах реалізації цього винаходу вектор вводять в клітину за допомогою електропорації.

Біологічні способи введення вектора в імунну ефекторну клітку включають в себе застосування ДНК- і РНК-векторів. Вірусні вектори стали найбільш широко застосовуваною системою для вставки генів в клітини ссавців наприклад, клітини людини.

Хімічні способи для введення вектора в імунну ефекторну клітину включають в себе колоїдні дисперсійні системи, як-от комплекси макромолекул, нанокапсули, мікросфери, гранули та системи на основі ліпідів, включаючи емульсії олія-у-воді, міцели, змішані міцели, а також ліпосоми. Типова колоїдна система для застосування в якості середовища-носія для доставки in vitro являє собою ліпосому (наприклад, штучна мембранна везикула).

У деяких варіантах реалізації цього винаходу молекули РНК, що кодують будь-який з CAR, описаних в цьому документі, можуть бути отримані за допомогою звичайних способів (наприклад, за допомогою транскрипції in vitro), а потім введені в імунні ефекторні клітини за допомогою відомих способів, як-от електропорація мРНК. Див., наприклад, Rabinovich et al., Human Gene Therapy 17: 1027-1035.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансдукована або трансфікована імунна ефекторна клітина розмножується ex vivo після введення вектора або виділеної нуклеїнової кислоти. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансдукована або трансфікована імунна ефекторна клітина культивується для розмноження щонайменше протягом близько 1 дня, 2 днів, 3 днів, 4 днів, 5 днів, 6 днів, 7 днів, 10 днів, 12 днів або 14 днів. У деяких варіантах реалізації цього винаходу трансдуковану або трансфіковану імунну ефекторну клітину додатково оцінюють або скринують, щоб вибрати сконструйовану клітину ссавця.

Репортерні гени можна застосовувати для ідентифікації потенційно трансфікованих клітин і для оцінки функціональності регуляторних послідовностей. У більшості випадків, репортерний ген являє собою ген, який не присутній або не експресується організмом-реципієнтом або тканиною, і який кодує поліпептид, експресія якого підтверджується певною властивістю, що легко виявляється наприклад, ферментною активністю. Експресію репортерного гена аналізують у відповідний час після введення ДНК в клітини-реципієнти. Придатні репортерні гени можуть включати в себе гени, що кодують люциферазу, бета-галактозидазу, хлорамфеніколацетилтрансферазу, лужну фосфатазу, що секретується, або ген зеленого флуоресцентного білка (наприклад, Ui-Tei et al. FEBS Letters 479: 79-82 (2000)). Придатні системи експресії є добре відомими і можуть бути приготовлені за допомогою відомих способів або отримані на комерційних умовах.

Інші способи підтвердження присутності нуклеїнової кислоти, що кодує CAR в сконструйованій імунній ефекторній клітині, включають в себе, наприклад, молекулярно-біологічні аналізи, добре відомі фахівцям в цій галузі техніки, як-от саузерн-і нозерн-блот, ЗТ-ПЛР і ПЛР; біохімічні аналізи, як-от виявлення наявності або відсутності конкретного пептиду, наприклад, за допомогою імунологічних методів (як-от ІФА і вестерн-блот).

1. Джерела Т-клітин

До розмноження і генетичної модифікації Т-клітин джерело Т-клітин отримують від індивідуума. Т-клітини можуть бути отримані з різних джерел, включаючи мононуклеарні клітини периферичної крові, кістковий мозок, тканину лімфатичних вузлів, пуповинну кров, тканина тимуса, тканину з ділянки інфекції, асцитичну рідину, плевральний випіт, тканину селезінки, а також пухлини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу можна застосовувати будь-яку кількість ліній Т-клітин, доступних в цій галузі техніки. У деяких варіантах реалізації цього винаходу Т-клітини можна отримати зі зразка крові, зібраної у суб'єкта, за допомогою будь-якої кількості методів, відомих фахівцеві в цій галузі техніки, як-от поділ FICOLL ™. У деяких варіантах реалізації цього винаходу клітини з циркулюючої крові індивідуума отримують шляхом аферезу. Як правило, продукт аферезу зазвичай містить лімфоцити, включаючи Т-клітини, моноцити, гранулоцити, В-клітини, інші ядерні лейкоцити, еритроцити і тромбоцити. У деяких варіантах реалізації цього винаходу клітини, отримані за допомогою аферезу, можна промити для видалення фракції плазми і помістити клітини у відповідний буфер або середовище для проведення подальших етапів обробки. У деяких варіантах реалізації цього винаходу клітини промивають фізіологічним розчином, забуференим фосфатом (ФСБ). У деяких варіантах реалізації цього винаходу в промивальному розчині відсутній кальцій і може бути відсутнім магній або можуть бути відсутні багато, якщо не всі, двовалентні катіони. Крім того, несподівано було виявлено, що на початкових етапах активації при відсутності кальцію спостерігається посилена активація. Фахівцям в цій галузі техніки буде чітко зрозуміло, що етап промивання можна виконати за допомогою способів, відомих фахівцям в цій галузі техніки, як-от застосування напівавтоматичної "проточної" центрифуги (наприклад, пристрій для обробки клітин Cobe 2991, Baxter CytoMate або Haemonetics Cell Saver 5) згідно з інструкціями виробника. Після промивання клітини можна ресуспендувати в різних біосумісних буферах, як-от, наприклад, ФСБ, який не містить Ca^{2+}, Mg^{2+}-PlasmaLyte A або інший сольовий розчин з буфером або без нього. В альтернативному варіанті небажані компоненти зразка

аферезуможна видалити, а клітини безпосередньо ресуспендувати в культуральному середовищі.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу Т-клітини виділяють з лімфоцитів периферичної крові шляхом лізису еритроцитів і виснаження моноцитів, наприклад, при центрифугуванні за допомогою градієнта PERCOLL™ або протипотокового елютриаційного центрифугування. Крім того, специфічну субпопуляцію Т-клітин, як-от CD3+, CD28+, CD4+, CD8+, CD45RA+ и CD45RO+ Т-клітини, можна виділити за допомогою сортування шляхом позитивного або негативного відбору. Наприклад, в деяких варіантах реалізації цього винаходу Т-клітини виділяють шляхом інкубації з анти-CO3/анти-CD28 (тобто, 3 × 28) -кон'югованних гранул, як-от DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T, протягом періоду часу, достатнього для позитивного відбору необхідних Т-клітин. У деяких варіантах варіантах реалізації цього винаходу період часу становить близько 30 хвилин. У додатковому варіанті реалізації цього винаходу період часу становить від 30 хвилин до 36 годин або довше і включає всі цілі значення між ними. У додатковому варіанті реалізації цього винаходу період часу становить щонайменше 1, 2, 3, 4, 5 або 6 годин. У деяких варіантах варіантах реалізації цього винаходу період часу становить від 10 до 24 годин. У деяких варіантах варіантах реалізації цього винаходу період інкубації становить 24 години. При виділенні Т-клітин у пацієнтів з лейкозом застосування більш тривалих періодів інкубації, наприклад, 24 години, може збільшити кількість клітин, які можна отримати. Довший час інкубації можна застосовувати для виділення Т-клітин в тому випадку, коли є невелика кількість Т-клітин в порівнянні з іншими типами клітин, наприклад, при виділенні лімфоцитів, що інфільтрують пухлину (TIL) з пухлинної тканини або в індивідуумів з ослабленим імунітетом. Крім того, застосування більш тривалих періодів інкубації може підвищити ефективність захоплення CD8+ Т-клітин. Таким чином, шляхом простого вкорочення або подовження періоду часу, протягом якого Т-клітини можуть зв'язуватися з гранулами CD3/CD28, та/або шляхом збільшення або зменшення співвідношення гранул до Т-клітин (як зазначено в цьому документі), прийнятніше, якщо субпопуляції Т- клітин будуть обиратися під час або впритул за часом до закладення культури або в інші моменти часу під час процесу. Крім того, шляхом збільшення або зменшення співвідношення антитіл анти- CD3 та/або анти- CD28 на гранулах або іншій поверхні, прийнятніше, якщо субпопуляції Т- клітин будуть обиратися під час або впритул за часом до закладення культури або в інших бажаних моментах часу. Фахівцю в цій галузі техніки буде зрозуміло, що можна застосовувати кілька циклів відбору. У деяких варіантах варіантах реалізації цього винаходу може бути бажаним виконати процедуру селекції і застосовувати "невідібрані" клітини в процесі активації і розмноження. "Невідібрані" клітини також можуть підлягати подальшим циклам відбору.

Збагачення популяції Т-клітин шляхом негативного відбору можна виконати за допомогою комбінації антитіл, направлених на поверхневі маркери, унікальні для негативно відібраних клітин. Одним із способів є сортування та/або відбір клітин за допомогою негативної магнітної імуноадгезії або проточної цитометрії, в якій застосовується суміш з моноклональних антитіл, направлених на маркери клітинної поверхні, які присутні на клітинах, вибраних негативно. Наприклад, щоб збагатити CD4+ клітини шляхом негативного відбору, суміш моноклональних антитіл, як правило, включає в себе антитіла до CD 14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR і CD8. У деяких варіантах реалізації цього винаходу може бути бажаним збагачувати або позитивно відбирати регуляторні Т-клітини, які зазвичай експресують CD4+, CD25+, CD62Lhi, GITR+ і FoxP3+. Альтернативно, в деяких варіантах реалізації цього винаходу Т-регуляторні клітини виснажують за допомогою анти-C25-кон'югованих гранул або інших подібних методів відбору.

Для виділення бажаної популяції клітин шляхом позитивного або негативного відбору концентрація клітин і поверхня (наприклад, частки, як-от гранули) можуть бути змінені. У деяких варіантах реалізації цього винаходу може бути бажаним значне зменшення об'єму, в якому гранули і клітини змішуються разом (тобто, збільшення концентрації клітин), з метою забезпечення максимального контакту клітин і гранул. Наприклад, в одному варіанті реалізації цього винаходу застосовують концентрацію 2 мільярди клітин/мл. В одному варіанті реалізації цього винаходу застосовують концентрацію 1 мільярд клітин/мл. У додатковому варіанті реалізації цього винаходу застосовують концентрацію понад 100 мільйонів клітин/мл. У додатковому варіанті реалізації цього винаходу застосовують концентрацію клітин 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 або 50 мільйонів клітин/мл. У ще одному варіанті реалізації цього винаходу застосовують концентрацію клітин 75, 80, 85, 90, 95 або 100 мільйонів клітин/мл. У додаткових варіантах реалізації цього винаходу можна застосовувати концентрацію, що становить 125 або 150 мільйонів клітин/мл. Застосування високих концентрацій може обумовити збільшення кількості отриманих клітин, активацію і розмноження клітин. Крім того, застосування високих концентрацій клітин дозволяє більш ефективно захоплювати клітини, які можуть слабо

експресувати антигени-мішені, що представляють інтерес, як-от CD28-негативні Т-клітини, або клітини зі зразків, в яких є багато пухлинних клітин (тобто, лейкозна кров, пухлинна тканина і т.д.). Такі популяції клітин можуть мати терапевтичну цінність і є бажаними для отримання. Наприклад, застосування високої концентрації клітин дозволяє більш ефективно відбирати CD8+ Т-клітини, які зазвичай характеризуються нижчим рівнем експресії CD28.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу може бути бажаним застосування більш низьких концентрацій клітин. Шляхом істотного розбавлення суміші Т-клітин і поверхні (наприклад, часток, як-от гранули), взаємодії між частинками і клітинами мінімізуються. Цей спосіб вибирають для клітин, які експресують велику кількість бажаних антигенів, зв'язаних з частинками. Наприклад, CD4+ Т-клітини експресують більш високі рівні CD28 і більш ефективно захоплюються, ніж CD8+ Т-клітини в розбавлених концентраціях. У деяких варіантах реалізації цього винаходу концентрація клітин, що застосовується, становить 5×10^6/мл. У деяких варіантах реалізації цього винаходу концентрація клітин, що застосовується, може становити від 1×10^5/мл до 1×10^6/мл, а також будь-яке ціле значення між ними.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу клітини можна інкубувати на ротаторі протягом різних проміжків часу з різними швидкостями при 2-10 °С або при кімнатній температурі.

Т-клітини для стимуляції також можна заморозити після етапу промивання. Не бажаючи бути обмеженими будь-якої теорією, вважають, що заморожування і наступний етап відтавання забезпечують більш однорідний продукт шляхом видалення гранулоцитів і в деякій мірі моноцитів в популяції клітин. Після етапу промивання, в результаті якого видаляється плазма і тромбоцити, клітини можна суспендувати в замороженому розчині. Незважаючи на те, що багато розчини і параметри заморожування відомі в цій галузі техніки і будуть придатні в цьому контексті, один із способів включає в себе застосування ФСБ, що містить 20 % ДМСО та 8 % сироваткового альбуміну людини, або культуральне середовище, що містить 10 % декстрану 40 і 5 % глюкози, 20 % сироваткового альбуміну людини і 7,5 % ДМСО, або 31,25 % плазмаліту-А (Plasmalyte-A), 31,25 % глюкози 5 %, 0,45 % NaCl, 10 % декстрану 40 і 5 % глюкози, 20 % сироваткового альбуміну людини і 7,5 % ДМСО або інших придатних середовищ для заморожування клітин, що містять, наприклад, Геспан (Hespan) і Плазмаліт А (PlasmaLyte A), після обробки якими клітини заморожують до -80 °С з інтенсивністю 1° в хвилину і зберігають у паровій фазі резервуара для зберігання рідкого азоту. Можна застосовувати й інші методи контрольованого заморожування, а також неконтрольоване миттєве заморожування при t-20 °С або в рідкому азоті.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу кріоконсервовані клітини розморожують і промивають, як описано в цьому документі, і залишають на одну годину при кімнатній температурі перед активацією.

В цьому винаході також розглядається збір зразків крові або продукту аферезу у суб'єкта в період часу до того, коли може знадобитися розмноження клітини, як описано в цьому документі. Таким чином, клітини, що підлягають розмноженню, можна зібрати з їх джерела отримання в будь-який необхідний момент часу, при цьому бажані клітини, як-от Т-клітини будуть виділятися і заморожуватися для подальшого застосування з метою Т-клітинної терапії ряду захворювань або патологічних станів, при яких буде ефективна Т-клітинна терапія, як-от описана в цьому документі. В одному варіанті реалізації цього винаходу зразок крові або аферезу отримують від в цілому здорового суб'єкта. У деяких варіантах реалізації цього винаходу зразок крові або аферезу отримують від в цілому здорового суб'єкта, який схильний до ризику розвитку захворювання, але у якого захворювання ще не розвинулося, при цьому клітини, що представляють інтерес, виділяють і заморожують для подальшого застосування. У деяких варіантах реалізації цього винаходу Т-клітини можна розмножити, заморозити і застосовувати пізніше. У деяких варіантах реалізації цього винаходу зразки збирають у пацієнта незабаром після встановлення діагнозу конкретного захворювання, як описано в цьому документі, але до застосування будь-якого виду лікування. У подальшому варіанті реалізації цього винаходу клітини виділяють з зразка крові або аферезу у суб'єкта до застосування будь-якої кількості відповідних способів лікування, включаючи, але не обмежуючись ними, лікування такими агентами, як наталізумаб, ефалізумаб, противірусні агенти, хіміотерапію, радіаційне опромінення, імуносупресивні агенти, як-от циклоспорин, азатіоприн, метотрексат, мікофенолат і FK506, антитіла або інші імуноабляційні агенти, як-от С AMP ATH, антитіла анти-CDS, цитоксан, флударабін, циклоспорин, FK506, рапаміцин, мікофенольна кислота, стероїди, FR901228, а також променева обробка. Ці препарати інгібують кальціневрин кальційзалежну фосфатазу (циклоспорин і FK506) або інгібують кіназу p70S6, що важливо для передачі сигналів, індукованих фактором росту (рапаміцин) (Liu et al., Cell 66: 807-815, 1991; Henderson et al., Immun 73: 316-321, 1991; Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5: 763-773, 1993). У додатковому

варіанті реалізації цього винаходу клітини виділяють від пацієнта і заморожують для подальшого застосування в поєднанні з (наприклад, до, одночасно або після) трансплантацією кісткового мозку або стовбурових клітин, Т-клітинною абляційною терапією із застосуванням або хіміотерапевтичних агентів, як-от флударабін, зовнішня дистанційна променева терапія (XRT), циклофосфамід, або антитіл, як-от OKT3 або CAMP ATH. В іншому варіанті реалізації цього винаходу клітини можуть бути заздалегідь виділені і заморожені для подальшого застосування з метою лікування після В-клітинної абляційної терапії із застосуванням таких агентів, які реагують з CD20, наприклад, ритуксан.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу Т-клітини отримують від пацієнта безпосередньо після лікування. В цьому відношенні було виявлено, що після деяких видів лікування раку, зокрема, лікування препаратами, які уражають імунну систему, незабаром після лікування в ході періоду, коли пацієнти зазвичай відновлюються після лікування, якість отриманих Т-клітин може бути оптимальною або поліпшеною щодо їх здатності розмножуватися ex vivo. Аналогічним чином, після здійснення процесів ex vivo із застосуванням способів, описаних в цьому документі, ці клітини можуть перебувати в прийнятнішому стані, що забезпечує краще приживлення і розмноження in vivo. Таким чином, в контексті цього винаходу передбачається збирати клітини крові, включаючи Т-клітини, дендритні клітини або інші клітини гематопоетичної лінії, під час цієї фази відновлення. Крім того, в деяких варіантах реалізації цього винаходу мобілізацію (наприклад, мобілізація з ГМКСФ) і схеми підготовки до лікування можна застосовувати для формування стану у суб'єкта, при якому перевага віддається репопуляції, рециркуляції, регенерації та/або розмноженню конкретних типів клітин, особливо протягом певного періоду часу після терапії. Ілюстративні типи клітин включають Т-клітини, В-клітини, дендритні клітини й інші клітини імунної системи.

2. Активація і розмноження Т-клітин

Т-клітини можна активувати і розмножити незалежно від того, виконувати це до чи після їх генетичної модифікації із застосуванням CAR, описаних в цьому документі, здійснюючи зазначену активацію і розмноження, як правило, за допомогою способів, описаних, наприклад, в патентах США №№ 6352694; 6534055; 6905680; 6692964; 5858358; 6887466; 6905681; 7144575; 7067318; 7172869; 7232566; 7175843; 5883223; 6905874; 6797514; 6867041; і в публікації заявки на патент США № 20060121005.

Як правило, Т-клітини можна розмножити шляхом контакту з поверхнею, що містить прикріплений до неї агент, який стимулює сигнал, асоційований з комплексом CD3/TCR, і лігандом, який стимулює костимулюючу молекулу на поверхні Т-клітин. Зокрема, популяції Т-клітин можна стимулювати, як описано в цьому документі, наприклад, шляхом приведення в контакт з антитілом анти-CD3 або його антигензв'язуючим фрагментом, або антитілом анти-CD2, імобілізованим на поверхні, або шляхом приведення в контакт з активатором протеїнкінази С (наприклад, бріостатином) в поєднанні з іонофором кальцію. Для костимуляції додаткової молекули на поверхні Т-клітин застосовується ліганд, який зв'язує додаткову молекулу. Наприклад, популяцію Т-клітин можна приводити в контакт з антитілом анти-CD3 і антитілом анти-CD28 в умовах, придатних для стимуляції проліферації Т-клітин. Для стимуляції проліферації або CD4+ Т-клітин, або CD8 + Т-клітин можна застосовувати антитіла анти-CD3 і антитіла анти-CD28. Можна застосовувати антитіла анти-CD28, приклади яких включають в себе 9. 3, B-T3, XR-CD28 (Diaclone, Безансон, Франція), як й інші відомі в цій галузі техніки способи (Berg et al., Transplant Proc. 30 (8): 3975-3977, 1998. Haanen et al., J. Exp. Med. 190 (9): 13191328, 1999; Garland et al., J. Immunol Meth. 227(1-2): 53-63, 1999).

У деяких варіантах реалізації цього винаходу первинний стимулюючий сигнал і костимулюючий сигнал для Т-клітини можна отримати за допомогою різних протоколів. Наприклад, агенти, що забезпечують кожен сигнал, можуть перебувати в розчині або бути з'єднані з поверхнею. При з'єднанні з поверхнею агенти можуть бути з'єднані з однією і тією ж поверхнею (тобто у формі "цис") або з роздільними поверхнями (тобто у формі "транс"). В альтернативному варіанті один агент може бути зв'язаний з поверхнею і з іншим агентом в розчині. В одному варіанті реалізації цього винаходу агент, що забезпечує костимулюючий сигнал, зв'язаний з поверхнею клітини, а агент, що забезпечує первинний активуючий сигнал, знаходиться в розчині або з'єднаний з поверхнею. У деяких варіантах реалізації цього винаходу обидва агента можуть перебувати в розчині. В іншому варіанті реалізації цього винаходу агенти можуть знаходиться в розчинній формі, а потім поперечно зшиті з поверхнею, як-от клітина, що експресує Fc-рецептори, або антитіло або інший зв'язуючий агент, який буде зв'язуватися з агентами. Стосовно цього, див., наприклад, публікації заявок на патенти США №№ 20040101519 і 20060034810 для штучних антигенрепрезентативних клітин (aAPC), які призначені для застосування з метою активації і розмноження Т-клітин в цьому винаході.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу Т-клітини комбінують з гранулами, покритими агентом, потім гранули і клітини розділяють, після чого клітини культивують. В альтернативному варіанті реалізації цього винаходу, перед культивуванням, клітини і гранули, покриті агентом, не розділяють, а культивують разом. У додатковому варіанті реалізації цього винаходу гранули і клітини спочатку концентрують шляхом застосування сили, як-от магнітна сила, що призводить до посиленого лігування маркерів клітинної поверхні, тим самим індукуючи клітинну стимуляцію.

Як приклад, білки клітинної поверхні можна лігувати, забезпечивши контакт парамагнітних гранул, до яких прикріплені анти-CD3 і анти-CD28 (3×28 гранул), з Т-клітинами. В одному варіанті реалізації цього винаходу клітини (наприклад, від 10^4 до 10^9 Т-клітин) і гранули (наприклад, парамагнітні гранули DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T в співвідношенні 1: 1) комбінують у буфер, прийнятніше ФСБ (без двовалентних катіонів, як-от кальцій і магній). Як і в попередньому випадку, фахівці в цій галузі техніки можуть легко оцінити, яку концентрацію клітин можна застосовувати. Наприклад, клітина-мішень може дуже рідко зустрічатися в зразку і складати тільки 0,01 % зразка, або весь зразок (тобто 100 %) може містити клітину-мішень, що представляє інтерес. Відповідно, для цього винаходу можна застосовувати будь-яку кількість клітин. У деяких варіантах реалізації цього винаходу може бути бажаним значне зменшення об'єму, в якому частинки і клітини змішуються разом (тобто, збільшення концентрації клітин), з метою забезпечення максимального контакту клітин і частинок. Наприклад, в одному варіанті реалізації цього винаходу застосовують концентрацію близько 2 мільярдів клітин/мл. В іншому варіанті реалізації цього винаходу застосовують концентрацію понад 100 мільйонів клітин/мл. У додатковому варіанті реалізації цього винаходу застосовують концентрацію клітин 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 або 50 мільйонів клітин/мл. У ще одному варіанті реалізації цього винаходу застосовують концентрацію клітин 75, 80, 85, 90, 95 або 100 мільйонів клітин/мл. У додаткових варіантах реалізації цього винаходу можна застосовувати концентрацію, що становить 125 або 150 мільйонів клітин/мл. Застосування високих концентрацій може обумовити збільшення кількості отриманих клітин, активацію і розмноження клітин. Крім того, застосування високих концентрацій клітин дозволяє більш ефективно захоплювати клітини, які можуть слабо експресувати антигени-мішені, що представляють інтерес, як-от CD28-негативні Т-клітини. Такі популяції клітин можуть мати терапевтичну цінність і є бажаними для отримання в деяких варіантах реалізації цього винаходу. Наприклад, застосування високої концентрації клітин дозволяє більш ефективно відбирати CD8+ Т-клітини, які зазвичай характеризуються нижчим рівнем експресії CD28.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу суміш можна культивувати протягом декількох годин (близько 3 годин) до близько 14 днів або будь-якого цілого значення години між ними. В іншому варіанті реалізації цього винаходу суміш можна культивувати протягом 21 дня. В одному варіанті реалізації цього винаходу гранули і Т-клітини культивують разом протягом близько восьми днів. В іншому варіанті реалізації цього винаходу гранули і Т-клітини культивують разом протягом 2-3 днів. Також можуть знадобитися кілька циклів стимуляції, в результаті чого час культивування Т-клітин може становити 60 днів або більше. Умови, які підходять для культивування Т-клітин, включають відповідне середовище (наприклад, мінімальне основне середовище або середовище RPMI Media 1640 або X-vivo 15 (Lonza)), які можуть містити фактори, необхідні для проліферації і життєздатності, включаючи сироватку (наприкладфетшьпу бичачу або людську), інтерлейкін-2 (IL-2), інсулін, IFN-γ, IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGFβ і TNF-α або будь-які інші добавки для росту клітин, відомих фахівцеві в цій галузі техніки. Інші добавки для росту клітин включають в себе, але не обмежуються ними, поверхнево-активну речовину, плазматат і відновники, як-от N-ацетилцистеїн і 2-меркаптоетанол. Середовище може включати в себе RPMI 1640, AIM-V, DMEM, MEM, α-MEM, F-12, X-Vivo 15 і X-Vivo 20, Optimizer, з доданими амінокислотами, піруватом натрію і вітамінами, без сироватки або з додаванням відповідної кількості сироватки (або плазми) або певного набору гормонів та/або кількості цитокіну (ів), достатньої для росту і розмноження Т-клітин. Антибіотики наприклад, пеніцилін і стрептоміцин, включені тільки в експериментальні культури, а не в культури клітин, які призначені для введення суб'єкту. Клітини-мішені витримують в умовах, необхідних для підтримки росту, наприклад, при відповідній температурі (наприклад, 37 °C) і у відповідній атмосфері (наприклад, повітря плюс 5 % CO_2). Т-клітини, які зазнали впливу стимуляції протягом різних періодів часу, можуть володіти різними характеристиками. Наприклад, типові продукти крові або мононуклеарних клітин периферичної крові, отримані в результаті аферезу, мають популяцію хелперних Т-клітин (ТН, CD4 +), яка є більш чисельною, ніж популяція цитотоксичних або супресорних Т-клітин (ТС, CD8). Розмноження Т-клітин ex vivo в результаті стимуляції рецепторів CD3 і CD28 призводить до продукування популяції Т-клітин, які до приблизно 8-9 днів складаються переважно з ТН-клітин, тоді як приблизно через 8-9 днів

популяція Т-клітин включає в себе все більш численну популяцію ТС-клітин. Відповідно, в залежності від мети лікування, може бути прийнятнішим введення суб'єкту популяції Т-клітин, що включає переважно ТН-клітини. Аналогічним чином, якщо виділено антигенспецифічну підмножину ТС-клітин, може бути корисним розмножити цю підмножину до більшого ступеню.

Крім того, на додаток до маркерів CD4 і CD8, інші фенотипові маркери істотно розрізняються, але в значній мірі є відтворюваними під час процесу розмноження клітин. Таким чином, така відтворюваність дає можливість адаптувати активований продукт Т-клітин для конкретних цілей.

V. Фармацевтичні композиції

Крім того, в цій заявці пропонуються фармацевтичні композиції, що містять будь-яке одне з однодоменних антитіл анти-BCMA або будь-яку з сконструйованих імунних ефекторних клітин, що містять будь-який з CAR (як-от BCMA CAR), як описано в цьому документі, і фармацевтично прийнятний носій. Фармацевтичні композиції можна отримати шляхом змішування sdAb або безлічі сконструйованих імунних ефекторних клітин, що володіють бажаним ступенем чистоти, необов'язково, в поєднанні з фармацевтично прийнятними носіями, допоміжними речовинами або стабілізаторами (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. (1980)), у вигляді ліофілізованих препаратів або водних розчинів.

Прийнятні носії, допоміжні речовини або стабілізатори є нетоксичними для реципієнтів в застосовуваних дозах і концентраціях, і включають в себе буфери, антиоксиданти, включаючи аскорбінову кислоту, метіонін, вітамін Е, метабісульфіт натрію; консерванти, ізотонічні речовини, стабілізатори, комплекси металів (наприклад, Zn-білкові комплекси); хелатуючі агенти, як-от ЕДТК та/або неіонні поверхнево-активні речовини.

Буфери застосовують для контролю pH в діапазоні, який оптимізує терапевтичну ефективність, особливо якщо стабільність залежить від pH. Прийнятніше, якщо буфери присутні в концентраціях від близько 50 мМ до близько 250 мМ. Придатні буферні агенти для застосування за цим винаходом включають в себе як органічні, так і неорганічні кислоти і їх солі. Наприклад, цитрат, фосфат, сукцинат, тартрат, фумарат, глюконат, оксалат, лактат, ацетат. Крім того, буфери можуть містити солі гістидину і триметиламіну, як-от Тріс.

Консерванти додаються для уповільнення росту мікроорганізмів і зазвичай присутні в діапазоні від 0,2 % до 1,0 % (мас/об.). Придатні консерванти для застосування за цим винаходом включають в себе хлорид октадецилдиметилбензиламонію; хлорид гексаметонію; галогеніди бензалконію (наприклад, хлорид, бромід, йодид), хлорид бензетонію; тімеросал, фенол, бутил або бензиловий спирт; алкілпарабени, як-от метил або пропілпарабен; катехін; резорцин; циклогексанол, 3-пентанол і м-крезол.

Регулятори тонічності, які іноді називаються "стабілізаторами", присутні для регулювання або підтримки тонічності рідини в композиції. При застосуванні з великими зарядженими біомолекулами, як-от білки і антитіла, регулятори тонічності часто називають "стабілізаторами", оскільки вони можуть взаємодіяти із зарядженими групами бічних ланцюгів амінокислот, тим самим зменшуючи потенціал між- і внутрішньомолекулярних взаємодій. Регулятори тонічності можуть бути присутніми в будь-якій кількості від 0,1 до 25 мас. %, прийнятніше від 1 до 5 мас. %, з урахуванням відносних кількостей інших інгредієнтів. Прийнятні регулятори тонічності включають в себе багатоатомні цукрові спирти, переважно тригідратні або вищі цукрові спирти, як-от гліцерин, еритрит, арабітол, ксиліт, сорбіт і маніт.

Додаткові допоміжні речовини включають в себе агенти, які можуть функціонувати як одна або більша кількість з наступних речовин: (1) об'ємоутворюючі агенти, (2) підсилювачі розчинності, (3) стабілізатори і (4) і агенти, що запобігають денатурації або прилипанню до стінки контейнера. Такі допоміжні речовини включають в себе: багатоатомні цукрові спирти (перераховані вище); амінокислоти, як-от аланін, гліцин, глутамін, аспарагін, гістидин, аргінін, лізин, орнітин, лейцин, 2-фенілаланін, глутамінова кислота, треонін і т. д.; органічні цукри або цукрові спирти, як-от сахароза, лактоза, лактит, трегалоза, стахіоза, маноза, сорбоза, ксилоза, рибоза, рибітол, міоніситоза, міонізитол, галактоза, галактит, гліцерин, циклітоли (наприклад, інозит), поліетиленгліколь; сірковмісні відновники, як-от сечовина, глутатіон, тіоктова кислота, тиогліколят натрію, тіогліцерин, α-монотіогліцерин і тіосульфат натрію; білки з низькою молекулярною масою, як-от людський сироватковий альбумін, бичачий сироватковий альбумін, желатин або інші імуноглобуліни; гідрофільні полімери, як-от полівінілпіролідон; моносахариди (наприклад, ксилоза, маноза, фруктоза, глюкоза, дисахариди (наприклад, лактоза, мальтоза, сахароза), трисахариди, як-от рафіноза і полісахариди, як-от декстрин або декстран.

Неіонні поверхнево-активні речовини або детергенти (також відомі як "змочуючі агенти") містяться для полегшення солюбілізації терапевтичного агента, а також захисту терапевтичного білка від агрегації, викликаної перемішуванням, що також дозволяє складу піддаватися напрузі

поверхні зсуву без ініціювання денатурації активного терапевтичного білка або антитіла. Вміст неіонних поверхнево-активних речовин знаходиться в діапазоні від близько 0,05 мг/мл до близько 1,0 мг/мл, прийнятніше, від близько 0,07 мг/мл до близько 0,2 мг/мл.

Придатні неіонні поверхнево-активні речовини включають в себе полісорбати (20, 40, 60, 65, 80 і т. д.), поліоксимери (184, 188 і т. д.), поліоли PLURONIC®, TRITON®, поліоксиетиленові сорбітанові моноефіри (TWEEN®-20, TWEEN®-80 і т. д.), лауромакрогол 400, поліоксил 40 стеарат, поліоксиетилен гідрогенізована касторова олія 10, 50 і 60, моностеарат гліцерину, складний ефір сахарози і жирної кислоти, метилцелюлозу і карбоксиметилцелюлозу. Аніонні детергенти, які можна застосовувати, включають в себе лаурилсульфат натрію, діоктилсульфосукцинат натрію і діоктилсульфонат натрію. Катіонні детергенти включають в себе хлорид бензалконію або хлорид бензетонію.

Фармацевтичні композиції для введення in vivo повинні бути стерильними. Стерилізацію фармацевтичної композиції можна здійснити шляхом фільтрації через стерильні фільтруючі мембрани. Як правило, фармацевтичні композиції за цим винаходом поміщають в контейнер зі стерильним вхідним отвором, наприклад, пакет або флакон для внутрішньовенного розчину з пробкою, що проколюється голкою для підшкірної ін'єкції.

Шлях введення відповідає відомим і прийнятим способам, наприклад, одноразове або багаторазове введення болюсної дози або інфузія протягом тривалого періоду часу за допомогою відповідного шляху, наприклад, ін'єкція або інфузія за допомогою підшкірного, внутрішньовенного, внутрішньочеревного, внутрішньом'язового, внутрішньоартеріального, внутрішньовогнищевого або внутрішньосуглобового шляху, місцеве введення, інгаляція або введення з уповільненим вивільненням або пролонгованим вивільненням.

Можна виготовити препарати з уповільненим вивільненням. Відповідні приклади препаратів уповільненого вивільнення включають в себе напівпроникні матриці твердих гідрофобних полімерів, що містять антагоніст і присутні у вигляді формованих виробів, наприклад, плівок або мікрокапсул. Приклади матриць з уповільненим вивільненням включають в себе поліефіри, гідрогелі (наприклад, полі (2-гідроксиетилметакрилат) або полі (вініловий спирт)), полілактиди (патент США № 3773919), співполімери L-глутамінової кислоти і етил-L-глутамату, етилвінілацетат, що не розкладається, співполімери молочної кислоти-гліколевої кислоти, що розкладається, як-от LUPRON DEPOT™ (ін'єкційні мікросфери, які складаються з співполімеру молочної кислоти-гліколевої кислоти і лейпроліду ацетату), і полі-D-(-)-3-гідроксимасляну кислоту.

Фармацевтичні композиції, описані в цьому документі, також можуть містити більше однієї активної сполуки або агента, необхідних для конкретного показання, що підлягає лікуванню, прийнятніше, з додатковими видами активності, які не чинять негативного впливу один на одного. В альтернативному або додатковому варіанті композиція може містити цитотоксичний агент, хіміотерапевтичний агент, цитокін, імунодепресант або агент, що інгібує ріст. Такі молекули можуть бути присутніми в комбінації в кількостях, які ефективні при застосуванні з передбачуваною метою.

Активні інгредієнти можна включити в мікрокапсули, отримані, наприклад, за допомогою методик коацервації або міжфазної полімеризації, наприклад, гідроксиметилцелюлозні або желатинові мікрокапсули і полі-(метилметакрилатні) мікрокапсули, відповідно, в колоїдні системи доставки лікарських засобів (наприклад, ліпосоми, альбумінові мікросфери, мікроемульсії, наночастинки і нанокапсули) або в макроемульсії. Такі методики описані в Remington's Pharmaceutical Sciences 18th edition.

VI. Способи лікування

Винахід відноситься до способів і композицій для застосування в клітинній імунотерапії. У деяких варіантах реалізації цього винаходу клітинна імунотерапія призначена для лікування раку, включаючи, але не обмежуючись цим, гематологічні злоякісні пухлини і солідні пухлини. Будь-які анти-BCMA sdAb, CAR і сконструйовані імунні ефекторні клітини (як-от CAR-T-клітини), описані в цьому винаході, можна застосовувати в способі лікування раку. Описані в цьому документі CAR можуть бути придатні для лікування пухлин, що характеризуються мутаціями, які обумовлюють продукування зниклих варіантів антигену, а також для зниження резистентності до існуючих способів лікування. У деяких варіантах реалізації цього винаходу способи і композиції, описані в цьому документі, можна застосовувати для лікування інших захворювань, що асоційовані з антигенами, які специфічно розпізнаються однодоменними антитілами або CAR, включаючи, наприклад, аутоімунні захворювання.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб лікування раку (як-от множинної мієломи, наприклад, рецидивуючої або рефрактерної множинної мієломи) в індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної

кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент, який специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент, який специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу; а також (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб лікування раку (як-от множинної мієломи, наприклад, рецидивуючої або рефрактерної множинної мієломи) в індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перше анти-BCMA sdAb, яке специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і друге анти-BCMA sdAb, яке специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопа; а також (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є алогенною. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйовані імунні ефекторні клітини є CAR-T клітинами. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою гемобластоз, як-от множинна мієлома, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою рефрактерну або рецидивуючу множинну мієлому. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйовану імунну ефекторну клітину вводять в дозі від близько 10^5 до близько 10^7 клітин/кг, наприклад, від близько 3×10^5 до близько 7×10^6 клітин/кг або близько 3×10^6 клітин/кг. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйовану імунну ефекторну клітину вводять шляхом внутрішньовенної ін'єкції. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйовану імунну ефекторну клітину вводять в трьох дробних дозах протягом близько тижня.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб лікування раку (як-от множинної мієломи, наприклад, рецидивуючої або рефрактерно! множинної мієломи) в індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний BCMACAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить анти-BCMA sdAb; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, і (2) фармацевтично прийнятний носій, при цьому анти-BCMA sdAb містить будь-який з наступних елементів: (1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77; (2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; (3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79; (4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80; (5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81; (6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 82; (7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 83; (8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 84; (9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85; (10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86; (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87; (12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що

містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 88; (13) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 89; (14) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 90; (15) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 91; (16) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 92; (17) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93; (18) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 94; (19) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 95; (20) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96; (21) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 97; (22) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 98; (23) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 99; (24) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 100; (25) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 101; (26) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 102; (27) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 103; (28) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 104; (29) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 105; (30) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 106; (31) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 107; (32) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 108; (33) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 109; (34) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: ПО; (35) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 111; (36) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 112; (37) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 113; або (38) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 114. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є верблюжим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-

BCMA sdAb містить домен V_HH, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 115-152. У деяких варіантах реалізації цього винаходу BCMA CAR містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 216-256 і 298-335. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є алогенною. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою гемобластоз, як-от множинна мієлома, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою рефрактерну або рецидивуючу множинну мієлому. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйовану імунну ефекторну клітину вводять в дозі від близько 10^5 до близько 10^7 клітин/кг, наприклад, від близько 3×10^5 до близько 7×10^6 клітин/кг або близько 3×10^6 клітин/кг. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйовану імунну ефекторну клітину вводять шляхом внутрішньовенної ін'єкції. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйовану імунну ефекторну клітину вводять в трьох дробних дозах протягом близько тижня.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб отримання часткової або повної клінічної ремісії в індивідуума, що має множинну мієлому (наприклад, рецидивуючу або рефрактерну множинну мієлому), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от перше анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от друге анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу; а також (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйована імунна ефекторна клітина є алогенною. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйовані імунні ефекторні клітини є CAR-T клітинами. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою гемобластоз, як-от множинна мієлома, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою рефрактерну або рецидивуючу множинну мієлому. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйовану імунну ефекторну клітину вводять в дозі від близько 10^5 до близько 10^7 клітин/кг, наприклад, від близько 3×10^5 до близько 7×10^6 клітин/кг або близько 3×10^6 клітин/кг. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйовану імунну ефекторну клітину вводять шляхом внутрішньовенної ін'єкції. У деяких варіантах реалізації цього винаходу сконструйовану імунну ефекторну клітину вводять в трьох дробних дозах протягом близько тижня.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб лікування раку (як-от множинної мієломи, наприклад, рецидивуючої або рефрактерно!' множинної мієломи) в індивідуума (наприклад, у людини-індивідуума), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: анти-BCMA sdAb і фармацевтично прийнятний носій, при цьому анти-BCMA sdAb містить будь-який елемент з наступних: (1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77; (2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; (3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79; (4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80; (5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81; (6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 82; (7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 83; (8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 84; (9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85; (10) CDR1, що

містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86; (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87; (12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 88; (13) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 89; (14) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 90; (15) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 91; (16) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 92; (17) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93; (18) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 94; (19) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 95; (20) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96; (21) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 97; (22) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 98; (23) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 99; (24) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 100; (25) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 101; (26) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 102; (27) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 103; (28) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 104; (29) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 105; (30) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 106; (31) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 107; (32) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 108; (33) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 109; (34) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 110; (35) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 111; (36) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 112; (37) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність

SEQ ID NO: 113; або (38) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 114. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb є верблюжим, химерним, людським або гуманізованим. У деяких варіантах реалізації цього винаходу анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 115-152. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою гемобластоз, як-от множинна мієлома, гострий лімфобластний лейкоз або хронічний лімфоцитарний лейкоз. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою рефрактерну або рецидивуючу множинну мієлому.

Способи, описані в цьому документі, придатні для лікування різних видів раку, включаючи як солідний рак, так і гемобластози. Способи можуть застосовуватися до ракових захворювань на всіх стадіях, включаючи ранню стадію, пізню стадію і метастатичний рак. Способи, описані в цьому документі, можна застосовувати в якості першої лінії терапії, другої лінії терапії, третьої лінії терапії або комбінованої терапії з іншими способами лікування раку, відомими в цій галузі техніки, як-от хіміотерапія, хірургічне лікування, опромінення, генна терапія, імунотерапія, трансплантація кісткового мозку, трансплантація стовбурових клітин, таргетна терапія, кріотерапія, ультразвукова терапія, фотодинамічна терапія, радіочастотна абляція або інше, в режимі ад'ювантного або неоад 'ювантного лікування.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою множинну мієлому. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою множинну мієлому стадії I, стадії II або стадії III та/або стадії A або стадії B на основі системи стадіювання за Дьюрі-Селмоном (Durie-Salmon). У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою множинну мієлому стадії I, стадії II або стадії III на основі Міжнародної системи стадіювання, опублікованої Міжнародною робочою групою з вивчення мієломи (IMWG). У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою моноклональну гамапатію неясного генезу (MGUS). У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою безсимптомну (з млявим/невираженим перебігом) мієлому. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак проявляється клінічно або являє собою активну мієлому. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою рефрактерну множинну мієлому. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою метастатичну множинну мієлому. У деяких варіантах реалізації цього винаходу індивідуум не відповідав на попереднє лікування множинної мієломи. У деяких варіантах реалізації цього винаходу індивідуум має прогресуюче захворювання після попереднього лікування множинної мієломи. У деяких варіантах реалізації цього винаходу індивідуум раніше отримав щонайменше 2, 3, 4 або більшу кількість курсів лікування множинної мієломи. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рак являє собою рецидивуючу множинну мієлому.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу індивідуум має активну множинну мієлому. У деяких варіантах реалізації цього винаходу в індивідуума виявляють щонайменше 10 % клональних плазмових клітин кісткового мозку. У деяких варіантах реалізації цього винаходу в індивідуума є підтверджена біопсією плазмоцитома кісткового мозку або екстрамедулярна плазмоцитома. У деяких варіантах реалізації цього винаходу індивідуум має ознаки ураження органів-мішеней, що може бути пов'язано з основним проліферативним порушенням плазматичних клітин. У деяких варіантах реалізації цього винаходу індивідуум має гіперкальциемію, наприклад, кальцій сироватки > 0,25 ммоль/л (> 1 мг/дл) вище, ніж верхня межа норми або 2,75 ммоль/л (> 11 мг/дл). У деяких варіантах реалізації цього винаходу індивідуум має ниркову недостатність, наприклад, кліренс креатиніну < 40 мл в хвилину або креатинін сироватки > 177 мкмоль/л (> 2 мг/дл). У деяких варіантах реалізації цього винаходу індивідуум має анемію, наприклад, значення гемоглобіну > 20 г/л нижче нижньої межі норми, або значення гемоглобіну < 100 г/л. У деяких варіантах реалізації цього винаходу індивідуум має одну або більшу кількість патологій кісток, наприклад одне або більшу кількість остеолітичних уражень, підтверджених радіографією кісток, КТ або ПЕТ/КТ. У деяких варіантах реалізації цього винаходу індивідуум має один або більшу кількість з наступних біомаркерів злоякісності (MDE): (1) 60 % або більше клональних плазмових клітин при дослідженні кісткового мозку; (2) співвідношення сироваткових вільних залучених легких ланцюгів до незалучених, яке дорівнює 100 або більше, за умови, що абсолютний рівень залученого легкого ланцюга становить щонайменше 100 мг/л; і (3) більше одного осередкового ураження на МРТ розміром щонайменше 5 мм або більше.

Введення фармацевтичних композицій можна здійснювати будь-яким зручним способом, в тому числі за допомогою ін'єкцій, прийому всередину, трансфузії, імплантації або трансплантації. Композиції можна вводити пацієнту трансартеріально, підшкірно, внутрішньошкірно, внутрішньопухлинно, інтранодально, інтрамедулярно, внутрішньом'язово,

внутрішньовенно або внутрішньочеревно. У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію вводять системно. У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію вводять індивідууму шляхом інфузії, як-от внутрішньовенна інфузія. Інфузійні методики для імунотерапії добре відомі в цій галузі техніки (див., наприклад, Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319: 1676 (1988)). У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію вводять індивідууму шляхом внутрішньошкірної або підшкірної ін'єкції. У деяких варіантах реалізації цього винаходу композиції вводять шляхом внутрішньовенної ін'єкції. У деяких варіантах реалізації цього винаходу композиції вводять безпосередньо в пухлину або лімфатичний вузол. У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію вводять місцево в ділянку пухлини, наприклад, безпосередньо в пухлинні клітини, або тканини, які мають пухлинні клітини.

Дози і необхідна концентрація лікарського засобу в фармацевтичних композиціях за цим винаходом можуть варіюватися в залежності від конкретного застосування. Способи визначення відповідної дози або шляху введення добре відомі кваліфікованому фахівцю. Експерименти на тваринах забезпечують надійні рекомендації для визначення ефективних доз для лікування людини. Міжвидове визначення ефективних доз можна виконати згідно з принципами, викладеними в Mordenti, J. і Chappell, W. "The Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics, " в Toxicokinetics and New Drug Development, Yacobi et al., Eds, Pergamon Press, New York 1989, pp. 42-46. В рамках цього винаходу для різних способів лікування і при різних порушеннях будуть ефективними різні склади, при цьому введення, що застосовується при лікуванні конкретного органу або тканини, може вимагати доставки за допомогою способу, відмінного від іншого способу, за допомогою якого необхідно доставити склад до іншого органу або тканини.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу, в яких фармацевтична композиція містить будь-яке sdAb, описане в цьому документі, вказану фармацевтичну композицію вводять в дозі від близько 10 нг/кг до близько 100 мг/кг ваги тіла індивідуума або більше на добу, наприклад, від близько 1 мг/кг/доб до 10 мг/кг/доб, в залежності від шляху введення. Рекомендації по конкретним дозам і способам доставки наведені в літературі; див., наприклад, в патентах США № 4657760; 5206344; або 5225212.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу, в яких фармацевтична композиція містить будь-яку з сконструйованих імунних клітин, описаних в цьому документі, вказану фармацевтичну композицію вводять в дозі щонайменше близько 10^4, 10^5, 10^6, 10^7, 10^8 або 10^9 клітин/кг ваги тіла індивідуума. У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію вводять в дозі щонайменше від близько 10^4 до близько 10^5, від близько 10^5 до близько 10^6, від близько 10^6 до близько 10^7, від близько 10^7 до близько 10^8, від близько 10^8до близько 10^9, від близько 10^4 до близько 10^9, від близько 10^4 до близько 10^6, від близько 10^6 до близько 10^8, або від близько 10^5 до близько 10^7 клітин/кг ваги тіла індивідуума. У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію вводять в дозі щонайменше близько 1×10^5, 2×10^5, 3×10^5, 4×10^5, 5×10^5, 6×10^5, 7×10^5, 8×10^5, 9×10^5, 1×10^6, 2×10^6, 3×10^6, 4×10^6, 5×10^6, 6×10^6, 7×10^6, 8×10^6, 9×10^6, 1×10^7 клітин/кг або більше. У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію вводять в дозі, яка становить від близько 3×10^5 до близько 7×10^6 клітин/кг, або близько 3×10^6 клітин/кг.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію вводять один раз. У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію вводять багато разів (наприклад, 2, 3, 4, 5, 6 або більшу кількість разів). У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію вводять один раз в тиждень, один раз на 2 тижні, один раз на 3 тижні, один раз на 4 тижні, один раз на місяць, один раз на 2 місяці, один раз на 3 місяці, один раз на 4 місяці, один раз на 5 місяців, один раз на 6 місяців, один раз на 7 місяців, один раз на 8 місяців, один раз на 9 місяців або один раз на рік. У деяких варіантах реалізації цього винаходу інтервал між введеннями становить від близько одного тижня до 2 тижнів, від 2 тижнів до 1 місяця, від 2 тижнів до 2 місяців, від 1 місяця до 2 місяців, від 1 місяця до з місяців, від з місяців до 6 місяців або від 6 місяців до року. Спеціаліст в галузі медицини може легко визначити оптимальну дозу і схему лікування для конкретного пацієнта шляхом моніторингу за симптомами захворювання і відповідної корекції лікування у конкретного пацієнта.

Крім того, дози можна вводити за допомогою одного або більшої кількості дробних введень або шляхом безперервної інфузії. У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтичну композицію вводять в дробних дозах, наприклад, в близько 2, 3, 4, 5 або більшій кількості доз. У деяких варіантах реалізації цього винаходу дробові дози вводять протягом близько тижня. У деяких варіантах реалізації цього винаходу дозу поділяють на однакові частини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу дробові дози становлять близько 20 %, близько 30 % і

близько 50 % від загальної дози. У деяких варіантах реалізації цього винаходу інтервал між послідовними дробовими дозами становить близько 1 дня, 2 днів, 3 днів або довше. При повторному введенні протягом декількох днів або довше, залежно від патологічного стану, лікування продовжують до бажаного зменшення інтенсивності симптомів захворювання. Однак можна застосовувати й інші схеми введення доз. Ефективність лікування можна контролювати за допомогою звичайних методик і аналізів.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу кількість фармацевтичної композиції є ефективної для отримання об'єктивної клінічної відповіді в індивідуума. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб отримання об'єктивної клінічної відповіді в індивідуума, що має множинну мієлому (наприклад, рецидивуючу або рефрактерну множинну мієлому), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от перше анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от друге анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу; а також (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу в індивідуума отримують сувору клінічну відповідь (сКВ).

У деяких варіантах реалізації цього винаходу кількість фармацевтичної композиції є ефективною, щоб викликати ремісію захворювання (часткову або повну) в індивідуума. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб отримання ремісії захворювання (часткової або повної) в індивідуума, що має множинну мієлому (наприклад, рецидивуючу або рефрактерну множинну мієлому), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от перше анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от друге анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу; а також (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу клінічна ремісія виникає не більше ніж через близько 6 місяців, 5 місяців, 4 місяці, 3 місяці, 2 місяці, 1 місяць або раніше після отримання індивідуумом фармацевтичної композиції.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу кількість фармацевтичної композиції є ефективною для запобігання рецидиву або прогресуванню раку в індивідуума. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб запобігання рецидиву або прогресуванню раку в індивідуума, що має множинну мієлому (наприклад, рецидивуючу або рефрактерну множинну мієлому), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от перше анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от друге анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу; а також (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу рецидиву або прогресуванню захворювання запобігають на період щонайменше близько 6 місяців, 1 року, 2 років, 3 років, 4 років, 5 років і більше.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу кількість фармацевтичної композиції є ефективною для подовження виживання (наприклад, безрецидивного виживання) в індивідуума. У деяких варіантах реалізації цього винаходу виживання подовжується на період щонайменше близько 2, 3, 4, 5, 6, 12 або 24 місяців. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб подовження виживання в індивідуума, що має множинну мієлому (наприклад, рецидивуючу або рефрактерну множинну мієлому), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от перше анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от друге анти-BCMA sdAb), який

специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу; а також (2) фармацевтично прийнятний носій.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу фармацевтична композиція є ефективною для поліпшення якості життя індивідуума. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб поліпшення якості життя індивідуума, що має множинну мієлому (наприклад, рецидивуючу або рефрактерну множинну мієлому), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от перше анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от друге анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу; а також (2) фармацевтично прийнятний носій.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу кількість фармацевтичної композиції є ефективною для пригнічення росту або зменшення розміру солідної або лімфатичної пухлини. У деяких варіантах реалізації цього винаходу розмір солідної або лімфатичної пухлини зменшується щонайменше на 10 % (включаючи, наприклад, щонайменше близько 20 %, 30 %, 40 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % або 100 %). У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб пригнічення росту або зменшення розміру солідної або лімфатичної пухлини в індивідуума.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу кількість фармацевтичної композиції є ефективною для пригнічення метастазування пухлини в індивідуума. У деяких варіантах реалізації цього винаходу метастазування інгібується щонайменше на 10 % (включаючи, наприклад, щонайменше близько 20 %, 30 %, 40 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % або 100 %). У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб спосіб інгібування метастазування пухлини в індивідуума, що має множинну мієлому (наприклад, рецидивуючу або рефрактерну множинну мієлому), що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить: (1) сконструйовану імунну ефекторну клітину (як-от Т-клітина), що містить мультивалентний CAR, який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от перше анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з першим епітопом BCMA, і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент (як-от друге анти-BCMA sdAb), який специфічно зв'язується з другим епітопом BCMA; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен, при цьому перший епітоп відрізняється від другого епітопу; а також (2) фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб пригнічення метастазування в лімфатичний вузол. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб пригнічення метастазування в легені. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується спосіб пригнічення метастазування в печінку. Метастазування може бути оцінене за допомогою будь-яких відомих методів в цій галузі техніки, як-от аналізи крові, сканування кісток, рентгенівське сканування, КТ-сканування, ПЕТ-сканування і біопсія.

VII. Набори і готові вироби

В цьому винаході додатково пропонуються набори, разові дози і готові вироби, що містять будь-які однодоменні антитіла, химерні антигенні рецептори або сконструйовані імунні ефекторні клітини, описані в цьому документі. У деяких варіантах реалізації цього винаходу пропонується набір, який містить будь-яку з описаних в цьому документі фармацевтичних композицій, і прийнятніше, якщо пропонуються інструкції для його застосування.

Набори за цим винаходом знаходяться в придатною упаковці. Придатна упаковка включає, але не обмежується цим, флакони, пляшки, банки, гнучку упаковку (наприклад, герметичні майларові або пластикові пакети) тощо. Необов'язково набори можуть містити додаткові компоненти, як-от буфери і пояснювальну інформацію. Таким чином, в цьому винаході також пропонуються готові вироби, які включають в себе флакони (наприклад, герметичні флакони), пляшки, банки, гнучку упаковку тощо.

Готовий виріб може містити контейнер і етикетку, яка пов'язана з контейнером або знаходиться на ньому, або листок-вкладиш в упаковку. Відповідні контейнери включають, наприклад, бутлі, флакони, шприци / т.д. Контейнери можна виготовити з різних матеріалів, наприклад, зі скла або пластику. Як правило, контейнер містить композицію, яка ефективно застосовується при лікуванні захворювання або порушення (як-от рак), описаного в цьому документі, і може мати стерильний вхідний отвір (наприклад, контейнер може бути пакетом з

розчином для внутрішньовенного введення або флаконом з пробкою, яку проколюють голкою для підшкірної ін'єкції). На етикетці або на листку-вкладиші в упаковку зазначено, що композицію застосовують для лікування конкретного патологічного стану в індивідуума. Етикетка або листок-вкладиш в упаковку повинні додатково містити інструкції щодо введення композиції індивідууму. На етикетці можуть міститися вказівки щодо відновлення та/або застосування. Контейнер, що містить фармацевтичну композицію, може бути багаторазовим флаконом, який допускає повторні введення (наприклад, від 2-6 введень) відновленої композиції. У листку-вкладиші в упаковку наводяться інструкції, що в звичайному порядку включаються в комерційні упаковки терапевтичних засобів, які містять інформацію про показання, застосування, дози, введення, протипоказання та/або застереження, що стосуються застосування таких терапевтичних засобів. На додаток до цього, готовий виріб може додатково містити другий контейнер, що містить фармацевтично прийнятний буферний розчин, як-от бактеріостатична вода для ін'єкцій (BWFI), фосфатно-сольовий буферний розчин, розчин Рінгера та розчин глюкози. Готовий виріб може включати в себе інші матеріали, бажані з комерційної та споживчої точки зору, в тому числі інші буфери, розріджувачі, фільтри, голки і шприци.

Набори чи готовий виріб можуть включати в себе безліч разових доз фармацевтичної композиції та інструкції по застосуванню, упаковані в кількостях, достатніх для зберігання і застосування в аптеках, наприклад, в аптеках при клініках і аптеках, що мають рецептурно-виробничий відділ.

Приклади і типові варіанти реалізації цього винаходу, наведені нижче, призначені лише для ілюстративних цілей і тому не повинні розглядатися як такі, що обмежують винахід будь-яким чином. Таким чином, наступні приклади і типові варіанти реалізації цього винаходу пропонуються в якості ілюстрації, а не для обмеження.

VIII. Типові варіанти реалізації цього винаходу

Цей винахід передбачає наступні варіанти реалізації:

Варіант реалізації 1. Однодоменне антитіло (sdAb) анти-BCMA, що містить будь-яку з наступних ділянок: (1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77; (2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78; (3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79; (4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80; (5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81; (6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 82; (7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 83; (8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 84; (9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85; (10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86; (11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87; (12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 88; (13) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 89; (14) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 90; (15) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 91; (16) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність

SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 92; (17) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93; (18) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 94; (19) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 95; (20) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96; (21) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 97; (22) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 98; (23) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 99; (24) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 100; (25) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 101; (26) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 102; (27) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 103; (28) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 104; (29) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 105; (30) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 106; (31) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 107; (32) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 108; (33) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 109; (34) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 110; (35) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 111; (36) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 112; (37) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 113; або (38) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 114.

Варіант реалізації 2. Анти-BCMA sdAb за варіантом реалізації 1, яке відрізняється тим, що анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 115-152.

Варіант реалізації 3. Антитіло анти-BCMA, яке конкурує з анти-BCMA sdAb за варіантом реалізації 1 або 2.

Варіант реалізації 4. Антитіло анти-BCMA за варіантом реалізації 3, яке відрізняється тим, що антитіло анти-BCMA являє собою sdAb.

Варіант реалізації 5. Анти-BCMA sdAb за будь-яким із варіантів реалізації 1, 2 і 4, яке відрізняється тим, що анти-BCMA sdAb являє собою верблюже антитіло.

Варіант реалізації 6. Анти-BCMA sdAb за будь-яким із варіантів реалізації 1, 2 і 4, яке відрізняється тим, що анти-BCMA sdAb являє собою химерне антитіло.

Варіант реалізації 7. Анти-BCMA sdAb за будь-яким із варіантів реалізації 1, 2 і 4, яке відрізняється тим, що анти-BCMA sdAb є гуманізованим.

Варіант реалізації 8. Анти-BCMA sdAb за будь-яким із варіантів реалізації 1-2 і 4-7, яке відрізняється тим, що анти-BCMA sdAb являє собою фрагмент V_HH.

Варіант реалізації 9. Химерний антигенний рецептор (CAR), який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить анти-BCMA sdAb за будь-яким із варіантів реалізації 1-2 і 4-7; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен.

Варіант реалізації 10. CAR за варіантом реалізації 9, який відрізняється тим, що позаклітинний антигензв'язуючий домен містить щонайменше два анти-BCMA sdAb.

Варіант реалізації 11. Мультивалентний химерний антигенний рецептор (CAR), який містить поліпептид, що містить: (a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить щонайменше два BCMA-зв'язуючих фрагменти; (b) трансмембранний домен; і (c) внутрішньоклітинний сигнальний домен.

Варіант реалізації 12. Мультивалентний CAR за варіантом реалізації 11, який відрізняється тим, що позаклітинний антигензв'язуючий домен містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент.

Варіант реалізації 13. Мультивалентний CAR за варіантом реалізації 12, який відрізняється тим, що один або більша кількість з першого BCMA-зв'язуючого фрагмента і другого BCMA-зв'язуючого фрагмента являє собою sdAb.

Варіант реалізації 14. Мультивалентний CAR за варіантом реалізації 12 або 13, який відрізняється тим, що перший BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою перше анти-BCMA sdAb, а другий BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою друге анти-BCMA sdAb.

Варіант реалізації 15. Мультивалентний CAR за варіантом реалізації 12 або 13, який відрізняється тим, що перший BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою анти-BCMA sdAb, а другий BCMA-зв'язуючий фрагмент є похідним від антитіла людини.

Варіант реалізації 16. Мультивалентний CAR за варіантом реалізації 12 або 13, який відрізняється тим, що перший BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою перше анти-BCMA sdAb, а другий BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою поліпептидний ліганд BCMA.

Варіант реалізації 17. Мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 12-16, який відрізняється тим, що перший BCMA-зв'язуючий фрагмент і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент специфічно зв'язуються з одним і тим же епітопом на BCMA.

Варіант реалізації 18. Мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 12-16, який відрізняється тим, що перший BCMA-зв'язуючий фрагмент і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент специфічно зв'язуються з різними епітопами на BCMA.

Варіант реалізації 19. Мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 12-18, який відрізняється тим, що перший BCMA-зв'язуючий фрагмент та/або другий BCMA-зв'язуючий фрагмент специфічно зв'язується з епітопом на BCMA, похідним від амінокислотної послідовності, вибраної з SEQ ID NO: 388-394.

Варіант реалізації 20. Мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 12-19, який відрізняється тим, що один або більша кількість з першого BCMA-зв'язуючого фрагмента і другого BCMA-зв'язуючого фрагмента являє собою анти-BCMA sdAb за варіантом реалізації 1.

Варіант реалізації 21. Мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 12-20, який відрізняється тим, що перший BCMA-зв'язуючий фрагмент розташований на N-кінці другого BCMA-зв'язуючого фрагмента.

Варіант реалізації 22. Мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 12-20, який відрізняється тим, що перший BCMA-зв'язуючий фрагмент розташований на C-кінці другого BCMA-зв'язуючого фрагмента.

Варіант реалізації 23. Мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 12-22, який відрізняється тим, що перший BCMA-зв'язуючий фрагмент і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент є злитими один з одним за допомогою пептидного лінкера.

Варіант реалізації 24. Мультивалентний CAR за варіантом реалізації 23, який відрізняється тим, що пептидний лінкер має довжину не більше ніж близько 50 амінокислот.

Варіант реалізації 25. Мультивалентний CAR за варіантом реалізації 23, який відрізняється тим, що пептидний лінкер містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 208-215.

Варіант реалізації 26. CAR або мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 9-25, який відрізняється тим, що трансмембранний домен є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD 137, CD80, CD86, CD152 і PD1.

Варіант реалізації 27. CAR або мультивалентний CAR за варіантом реалізації 26, який відрізняється тим, що трансмембранний домен є похідним від CD8α або CD28.

Варіант реалізації 28. CAR або мультивалентний CAR за варіантом реалізації 27, який відрізняється тим, що трансмембранний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 193 або 194.

Варіант реалізації 29. CAR або мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 9-28, який відрізняється тим, що внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини.

Варіант реалізації 30. CAR або мультивалентний CAR за варіантом реалізації 29, який відрізняється тим, що первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ.

Варіант реалізації 31. CAR або мультивалентний CAR за варіантом реалізації 30, який відрізняється тим, що первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 197 або 198.

Варіант реалізації 32. CAR або мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 9-31, який відрізняється тим, що внутрішньоклітинний сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен.

Варіант реалізації 33. CAR або мультивалентний CAR за варіантом реалізації 32, який відрізняється тим, що костимулюючий сигнальний домен є похідним від костимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, ICOS, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій.

Варіант реалізації 34. CAR або мультивалентний CAR за варіантом реалізації 33, який відрізняється тим, що костимулюючий сигнальний домен містить цитоплазматичний домен CD28 та/або цитоплазматичний домен CD 137.

Варіант реалізації 35. CAR або мультивалентний CAR за варіантом реалізації 34, який відрізняється тим, що костимулюючий сигнальний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 195 та/або SEQ ID NO: 196.

Варіант реалізації 36. CAR або мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 32-35, який відрізняється тим, що внутрішньоклітинний сигнальний домен містить щонайменше два костимулюючих сигнальних домена.

Варіант реалізації 37. CAR або мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 9-36, який додатково містить шарнірний домен, розташований між С-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену.

Варіант реалізації 38. CAR або мультивалентний CAR за варіантом реалізації 37, який відрізняється тим, що шарнірний домен є похідним від CD8a.

Варіант реалізації 39. CAR або мультивалентний CAR за варіантом реалізації 38, який відрізняється тим, що шарнірний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 192.

Варіант реалізації 40. CAR або мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 9-39, який додатково містить сигнальний пептид, розташований на N-кінці поліпептиду.

Варіант реалізації 41. CAR або мультивалентиий CAR за варіантом реалізації 40, який відрізняється тим, що сигнальний домен є похідним від CD8a.

Варіант реалізації 42. CAR або мультивалентний CAR за варіантом реалізації 41, який відрізняється тим, що сигнальний домен містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 191.

Варіант реалізації 43. Химерний антигенний рецептор, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 216-256 і 298-335.

Варіант реалізації 44. Виділена нуклеїнова кислота, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує CAR або мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 11-43.

Варіант реалізації 45. Виділена нуклеїнова кислота за варіантом реалізації 44, яка містить послідовність нуклеїнової кислоти, вибрану з групи, що складається з SEQ ID NO: 257-297 і 336-373.

Варіант реалізації 46. Виділена нуклеїнова кислота за варіантом реалізації 45, яка додатково містить послідовність другої нуклеїнової кислоти, що кодує другий CAR, при цьому послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує CAR, функціонально пов'язана з послідовністю другої нуклеїнової кислоти за допомогою послідовності третьої нуклеїнової кислоти, що кодує пептид, який самостійно розщеплюється.

Варіант реалізації 47. Виділена нуклеїнова кислота за варіантом реалізації 46, при цьому пептид, який самостійно розщеплюється, вибирають з групи, що складається з T2A, P2A і F2A.

Варіант реалізації 48. Виділена нуклеїнова кислота за варіантом реалізації 47, при цьому послідовність третьої нуклеїнової кислоти являє собою SEQ ID NO: 385.

Варіант реалізації 49. Виділена нуклеїнова кислота а будь-яким із варіантів реалізації 44-48, при цьому виділена нуклеїнова кислота являє собою молекулу РНК.

Варіант реалізації 50. Вектор, що містить виділену нуклеїнову кислоту за будь-яким із варіантів реалізації 44-49.

Варіант реалізації 51. Вектор за варіантом реалізації 50, який відрізняється тим, що вказаний вектор являє собою експресійний вектор.

Варіант реалізації 52. Вектор за варіантом реалізації 50 або 51, який відрізняється тим, що вказаний вектор являє собою вірусний вектор.

Варіант реалізації 53. Вектор за варіантом реалізації 52, який відрізняється тим, що вказаний вектор являє собою лентивірусний вектор.

Варіант реалізації 54. Вектор за варіантом реалізації 50 або 51, який відрізняється тим, що вказаний вектор являє собою невірусний вектор.

Варіант реалізації 55. Сконструйована імунна ефекторна клітина, яка містить CAR або мультивалентний CAR за будь-яким із варіантів реалізації 9-43, виділена нуклеїнова кислота за будь-яким із варіантів реалізації 44-49 або вектор за будь-яким із варіантів реалізації 50-54.

Варіант реалізації 56. Сконструйована імунна ефекторна клітина за варіантом реалізації 55, яка відрізняється тим, що вказана імунна ефекторна клітина являє собою Т-клітину, NK-клітину, мононуклеарну клітину периферичної крові (МКПК), гемопоетичну стовбурову клітину, плюрипотентну стовбурову клітину або ембріональну стовбурову клітину.

Варіант реалізації 57. Сконструйована імунна ефекторна клітина за варіантом реалізації 56, яка відрізняється тим, що вказана імунна ефекторна клітина являє собою Т-клітину.

Варіант реалізації 58. Фармацевтична композиція, яка містить сконструйовану імунну ефекторну клітину за будь-яким із варіантів реалізації 55-57, і фармацевтично прийнятний носій.

Варіант реалізації 59. Спосіб лікування раку в індивідуума, що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції за варіантом реалізації 58.

Варіант реалізації 60. Спосіб за варіантом реалізації 59, який відрізняється тим, що рак являє собою множинну мієлому.

Варіант реалізації 61. Спосіб за варіантом реалізації 60, який відрізняється тим, що рак являє собою рефрактерну або рецидивуючу множинну мієлому.

Варіант реалізації 62. Спосіб за будь-яким із варіантів реалізації 59-61, який відрізняється тим, що сконструйована імунна ефекторна клітина є аутологічною.

Варіант реалізації 63. Спосіб за будь-яким із варіантів реалізації 59-61, який відрізняється тим, що сконструйована імунна ефекторна клітина є алогенною.

Варіант реалізації 64. Спосіб за будь-яким із варіантів реалізації 59-63, який відрізняється тим, що індивідуум являє собою людину.

Варіант реалізації 65. Спосіб за будь-яким із варіантів реалізації 59-64, який відрізняється тим, що фармацевтичну композицію вводять внутрішньовенно.

Варіант реалізації 66. Спосіб за будь-яким із варіантів реалізації 59-65, який відрізняється тим, що фармацевтичну композицію вводять в дозі від близько 1×10 до близько 1×10^7 клітин/кг.

Варіант реалізації 67. Спосіб за будь-яким із варіантів реалізації 59-66, який відрізняється тим, що фармацевтичну композицію вводять в 3 дробних дозах протягом близько одного тижня.

Варіант реалізації 68. Застосування фармацевтичної композиції за варіантом реалізації 58 для лікування раку в індивідуума.

Варіант реалізації 69. Застосування фармацевтичної композиції за варіантом реалізації 58 в приготуванні лікарського засобу для лікування раку в індивідуума.

Варіант реалізації 70. Фармацевтична композиція, яка містить анти-BCMA sdAb за будь-яким із варіантів реалізації 1-8.

Варіант реалізації 71. Спосіб лікування раку в індивідуума, що включає введення індивідууму ефективної кількості фармацевтичної композиції за варіантом реалізації 70.

Варіант реалізації 72. Спосіб за варіантом реалізації 71, який відрізняється тим, що захворювання являє собою рак.

Приклади

Приклади, наведені нижче, призначені лише для ілюстративних цілей і тому не повинні розглядатися як такі, що обмежують цей винахід будь-яким чином. Приклади не призначені для підтвердження того, що наведені нижче експерименти є вичерпними або єдиними експериментами, які проводилися. Авторами вжито заходів для забезпечення точності стосовно чисел, що застосовуються (наприклад, кількостей, температури, тощо), але слід враховувати наявність деяких експериментальних похибок та відхилень. Якщо не вказано інше, частини є масовими частинами, молекулярна маса є середньою молекулярною масою, температура наведена в градусах Цельсія, а тиск дорівнює або є близьким атмосферному.

Приклад 1. Отримання анти-BCMA sdAb

З метою розробки sdAb з високою афінністю зв'язування з BCMA, лам імунізували рекомбінантним антигеном BCMA. Для ідентифікації лідерів VhH створювали бібліотеку фагового дисплею. Окремі клони довільно збирали і класифікували відповідно до ділянки 3 важкого ланцюга, що визначає компліментарність (CDR3), яка може відігравати важливу роль у зв'язуванні антигену. Протокол прикладу описаний нижче. Інші протоколи отримання sdAb описані в літературі. Див., наприклад, Els Pardon et al., Nature Protocol, 2014; 9 (3): 674.

1. Імунізація тварин і аналіз імунної відповіді

1.1 Імунізація тварин

Імуноген, який містить рекомбінантний антигенний білок BCMA людини, що має С-кінцевий Fc-тег (ACRO Biosystems, № за каталогом: BC7-H5254), змішували з ад'ювантом або ФСБ і вводили ламі. Тварин імунізував представник компанії-постачальника (Cedarline) сім разів, як правило, застосовуючи щоразу 200 мкг імуногену і CFA (повний ад'ювант Фрейнда) з інтервалом від 1 тижня до 2 тижнів. Зразки периферичної крові збирали на етапі попередньої імунізації і після 5-ї та 7-ї імунізації. Після декількох циклів імунізації у лам оцінювали імунні відповіді на цільовий антиген з метою визначення титру антигенспецифічних sdAb. Лімфоцити виділяли за допомогою градієнтного центрифугування з близько 100 мл периферичної крові. Клітини доповнювали RNALATER™ і зберігали при -80 °C. Сироватки отримували за допомогою центрифугування зразків антикоагульованої крові і зберігали при -80 °C.

1. 2 Фракціонування IgG

Фракціонування IgG на підкласи проводили відповідно до типової робочої інструкції GenScript. Підкласи IgG фракціонували із сироватки термінальної крові із застосуванням іонітів Protein G і Protein A. Зразок 1 мл сироватки поміщали в колонку 1 мл HITRAP® Protein G HP і промивали колонку за допомогою 10 мл фосфатного буфера (20 мМ, pH 7,0). Фракцію IgG3 (ММ 100 000 Да) елюювали за допомогою 0,15 М NaCl, 0,58 % оцтовою кислотою (pH 3,5) і нейтралізували елюат за допомогою 1 М Tpic-HCI (pH 9,0) до pH 7,4. Потім фракцію IgG1 (ММ 170,000 Da) елюювали за допомогою 0,1 М гліцин-HCI (pH 2,7) і нейтралізували елюат за допомогою 1 М Tpic-HCI (pH 8,5) до pH 7,4. Фільтрат колонки HITRAP® Protein G HP поміщали в колонку 1 мл HITRAP® Protein A HP і промивали колонку за допомогою 20 мл фосфатного буфера (20 мМ, pH 7,0). Фракцію IgG2 (ММ 100 000 Да) елюювали за допомогою 0,15 М NaCl, 0,58 % оцтовою кислотою (pH 4,5) і нейтралізували елюат за допомогою 1 М Tpic-HCI (pH 9,0) до pH 7,4. Концентрації очищених антитіл IgG1, IgG2 і IgG3 визначали за допомогою OD280, а ступінь чистоти кожного з них оцінювали за допомогою ДСН-ПААГ-електрофорезу як у відновлювальних, так і в невідновлювальних умовах.

1. 3. Аналіз імунної відповіді

Імунну відповідь у лам оцінювали за допомогою ІФА, в якому зразки сироватки і очищені IgG аналізували на предмет зв'язування з імобілізованими імуногенами. Оцінювали зразки сироваток, зібрані перед імунізацією, після 5-ї імунізації і отримані з термінальної крові. Антиген (тобто, рекомбінантний білок антигену людини) розбавляли в покриваючому буфері при концентрації 4 мкг/мл. Мікротитрувальний планшет покривали розведеним антигеном при 4 °C на ніч. Потім планшет промивали 3 рази буфером для промивання з подальшим блокуванням при кімнатній температурі протягом 2 годин. Після цього планшет промивали 4 рази буфером для промивання. Серії розбавлених сироваток або IgG додавали на планшет і інкубували при кімнатній температурі протягом 1,5 годин. Потім планшет промивали 4 рази буфером для промивання. HRP-кон'юговане вторинне анти-ламове антитіло IgG додавали на планшети та інкубували при кімнатній температурі протягом 1 години. Після промивання в кожну лунку додавали субстрат ТМБ та інкубували протягом 10 хвилин перед зупинкою за допомогою 1 М HCl. Для кількісного визначення зв'язування, поглинання для кожної лунки вимірювали при 450 нм за допомогою спектрометра МК3.

2. Конструкція бібліотеки фагових дисплеїв V_HH

2.1 Екстракція РНК

Загальну РНК екстрагували із виділених лімфоцитів (з 1. 1. 1) за допомогою реагенту TRIZOL® згідно з протоколом виробника. Кількість і якість загальної РНК застосовували невелику аліквоту клітин. Решту клітин доповнювали гліцерином і зберігали при -80 °C в якості запасу.

3. Пеннінг фагового дисплею

3.1 Біо-пеннінг

Сконструйовану фагову бібліотеку V_HH піддавали пеннінгу на предмет рекомбінантного білка BCMA людини і клітин CHO, які експресують BCMA людини (тобто, CHO-BCMA, власної розробки компанії Legend Biotec) відповідно, користуючись типовою робочою інструкцією, розробленою компанією GenScript. Запас бібліотеки вирощували до логарифмічної фази, після

чого бібліотеку вивільняли за допомогою фага-хелпера M13KO7 і ампліфікували протягом ночі при 25 °C в шейкері. Потім фаг осаджували за допомогою PEG/NaCl, знову суспендували в ФСБ і зберігали при -80 °C. Для твердофазного пеннінгу лунки мікропланшетів покривали рекомбінантним білком BCMA людини в ФСБ при 4 °C на ніч. Для рідкофазного пеннінгу клітини CHO-BCMA блокували за допомогою блокуючого буфера при кімнатній температурі протягом 1 години. На етапі покриття або блокування фагові частинки попередньо інкубували з блокуючим буфером і контрольним білком Fc в лунках мікропланшетів. Після попередньої інкубації фагові частинки додавали в лунки, покриті білками BCMA або розчином CHO-BCMA, та інкубували протягом 1 години. Після інкубації незв'язані і неспецифічно зв'язані фаги вимивали шляхом шестиразового промивання лунок або клітин CHO-BCMA за допомогою PBST з двома додатковими промиваннями за допомогою ФСБ. Зв'язані фагові частинки елюювали за допомогою 100 мМ триетиламіну (TEA), а елюат нейтралізували за допомогою 1 М Tpic-HCl (pH 7,4). Половину елюату потім застосовували для інфікування TG1 клітин E. coli з експоненційним ростом (OD_{600}=0.4~0.6) для вихідного титрування.

3. 2 ІФА для фага

ІФА для фага проводили з метою ідентифікації клонів, специфічних для антигенів-мішеней. Окремі клони отриманого фага вирощували в 96-лунковому планшеті і вивільняли за допомогою фага-хелпера M13KO7 протягом ночі. Для ідентифікації клонів, які зв'язуються з білками антигену, 96-лункові мікротитрувальні планшети для ІФА покривали рекомбінантним білком BCMA людини і контрольним білком Fc відповідно, в покриваючому буфері на ніч при 4 °C, після чого планшети блокували за допомогою блокуючого буфера. Після блокування, на планшети додавали близько 50 мкл на лунку фагового супернатанта з культури клітин, вирощеної протягом ночі, для 1,5-годинної інкубації при 4 °C. Планшети промивали чотири рази і додавали на планшети кон'юговане з HRP моноклональне антитіло анти-M13 для 45-хвилинної інкубації при 4 °C оцінювали за допомогою гель-електрофорезу і визначали кількісно шляхом вимірювання поглинання при OD260/280.

2. 2 3T-ПЛР і ампліфікація V_HH

Загальну РНК піддавали зворотній транскрипції в кДНК із застосуванням оліго$(dT)_{20}$ праймеру за допомогою набору для синтезу 1-го ланцюга кДНК PRIMESCRIPT™ згідно з протоколом виробника. Для посилення фрагментів V_HH розроблені шість прямих і два зворотних специфічних вироджених праймери, які мали дві ділянки рестрикції BgII. Фрагменти V_HH ампліфікували згідно з типовою робочою інструкцією GenScript, як описано нижче.

Варіабельні ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну (т.е., V_HH) ампліфікували за допомогою двоетапної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). У першій ПЛР 100 нг матриці кДНК змішували з праймерами CALL001 (SEQ ID NO: 374) і CALL002 (SEQ ID NO: 375). Продукти ДНК з першої реакції ПЛР аналізували за допомогою електрофорезу в агарозному гелі. Після виділення з гелю продукти ДНК першої ПЛР застосовували в якості матриць в другій ПЛР. Другу ПЛР виконували з праймерами BACK-1 (SEQ ID NO: 376), BACK-2 (SEQ ID NO: 377) і PMCF (SEQ ID NO: 378). Ампліфіковані продукти другої ПЛР, що містять ПЛР-фрагменти VhH, виділяли з гелю і розщеплювали за допомогою ферменту, а потім вводили в плазміди фагмідів. Рекомбінантні плазміди з фрагментами гену V_HH за допомогою електричної сили переносили в клітини E. coli для створення фагового дисплею імунної бібліотеки V_HH

Процедура реакції ПЛР має початковий етап денатурації при 94 °C протягом 7 хв, з наступними 30 циклами при 94 °C протягом 1 хв, 55 °C протягом 1 хв, і 72 °C протягом 1 хв; після цього - кінцевий етап подовження при 72 °C протягом 7 хв.

2. 3 Конструкція фагової бібліотеки

Продукти ПЛР V_HH отримували шляхом ампліфікації із застосуванням різних пар праймерів. Потім продукти ПЛР розщеплювали за допомогою BgII і виділяли з гелю. Виділені з гелю фрагменти вставляли в фагмідний вектор власної розробки GenScript. Для оптимізації умов літування і трансформації сконструювали експериментальну бібліотеку. Для розробки бібліотеки фагмідів застосовували оптимізовані умови лігування і трансформації. Невелику частину трансформованих клітин розбавляли і просівали на 2 × YT планшетах, доповнених 100 мкг/мл ампіциліну. З метою розрахунку розміру бібліотеки, підраховували колонії. Для оцінки якості бібліотеки випадковим чином вибирали і секвенували позитивні клони. Решту трансформованих клітин просівали на планшетах YT, доповнених 100 мкг/мл ампіциліну і 2 % глюкози. "Газони" колоній зішкрібали з планшетів. Для виділення плазміди з бібліотеки Планшети знову промивали п'ять разів, і в лунки додавали розчин субстрату для дозрівання. Для кожної лунки вимірювали абсорбцію при 450 нм.

Для ідентифікації клонів, які зв'язують клітини CHO-BCMA, клітини CHO-BCMA блокували за допомогою блокуючого буфера при кімнатній температурі протягом 1 години. Після блокування,

до розчинів клітин додавали близько 20 мкл на лунку фагового супернатанта з культури клітин, вирощеної протягом ночі, для 1-годинної інкубації при кімнатній температурі. Після чотириразового промивання клітин кон'юговане з HRP моноклональне антитіло анти-M13 додавали для 30-хвилинної інкубації при кімнатній температурі. Клітини промивали п'ять разів, і після цього додавали розчин субстрату для дозрівання. Абсорбцію вимірювали при 450 нм. Після пеннінгу, ідентифікували ІФА-позитивні клони фага, і з отриманого фага готували ДНК за допомогою наборів для екстракції плазмід. Анти-BCMA V_HH в плазмідах секвенували.

Приклад 2. Отримання типових одновалентних химерних антигенних рецепторів BCMA

Послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує каркасний поліпептид CAR, який містить від N-кінця до С-кінця: шарнірний домен CD8α, трансмембранний домен CD28, цитоплазматичний домен CD28, цитоплазматичний домен CD137 і цитоплазматичний домен CD3ζ, була хімічно синтезована і клонована в попередньо модифікований лентивірусний вектор, розташований за ходом транскрипції, і функціонально пов'язаний з конститутивним hEF1α-промотором. Отриманий каркасний вектор CAR був названий "PLLV-hEF1a-8281373". Багато сайтів клонування (MCS) у векторі дозволили вставити послідовність нуклеїнової кислоти, яка містить послідовність Kozak (SEQ ID NO: 379), функціонально пов'язану з послідовністю нуклеїнової кислоти, що кодує сигнальний пептид CD8α, злитий з N-кінцем фрагмента V_HH, у вектор PLLV-hEF1α-8281373, розташований проти ходу транскрипції і функціонально пов'язаний із каркасною послідовністю CAR.

Для побудови моноспецифічного CAR, що має одиночний домен V_HH, використовуючи каркас PLLV-hEF1α-8281373, послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує домен V_HH, функціонально зв'язували з 3'-нуклеотидною послідовністю, що кодує сигнальний пептид CD8α. Послідовність злитої нуклеїнової кислоти хімічно синтезували і клонували в каркас PLLV-hEF1α-8281373 CAR за допомогою ділянок рестрикції EcoRI (SEQ ID NO: 380: 5'-GAATTC-3') і SpeI (SEQ ID NO: 381: 5'-ACTAGT-3') із застосуванням молекулярних методів клонування, відомих в цій галузі техніки. У таблиці 4 перераховані вектори, які були сконструйовані для експресії типових моноспецифічних, одновалентних анти-BCMA CAR.

Для зручності подальшого вбудовування додаткових послідовностей, як-от нуклеотиду, що кодує другий V_HH, при проектуванні конструкції моноспецифічного CAR, ділянки рестрикції, включаючи HpaI (SEQ ID NO: 382: 5'-GTTAAC-3'), MluI (SEQ ID NO: 383: 5'-ACGCGT-3'), NsiI (SEQ ID NO: 384: 5'-ATGCAT-3') були включені між послідовністю нуклеїнової кислоти сигнального пептиду CD8α і послідовністю нуклеїнової кислоти V_HH.

Упаковану суміш плазмід лентивірусів, що включає pCMV-AR-8,74 і pMD2. G (Addgene # 12259), попередньо змішували з векторами PLLV-hEF1α-8281373, що мають фрагменти V_HH в попередньо оптимізованому співвідношенні з поліефіримідом (PEI), потім ретельно змішували та інкубували при кімнатній температурі протягом 5 хвилин. Потім трансфекційну суміш додавали по краплях до клітин HEK293 і обережно перемішували. Після цього клітини інкубували протягом ночі в інкубаторі для клітин при 37 °C і 5 % CO_2. Супернатанти збирали після центрифугування при 4 °C, 500 г протягом 10 хв.

Вірусовмісні супернатанти фільтрували через 0,45 мкм PES-фільтр з подальшим ультрацентрифугуванням для концентрування лентивірусів. Після ультрацентрифугування супернатанти обережно відокремлювали, а вірусні гранули акуратно ополіскували попередньо охолодженим ФСБД. Вірус належним чином аліквотували, а потім відразу ж заморожували для зберігання при -80 °C. Титр вірусу визначали на основі p24 за допомогою набору HTRF, розробленого компанією GenScript.

Отримання МКПК

Лейкоцити збирали у здорових донорів шляхом аферезу, і доводили концентрацію клітин до 5 × 10 клітин/мл в середовищі R10. Потім лейкоцити змішували з 0,9 % розчином NaCl при співвідношенні 1:1 (об./об.)). У 15 мл центрифужну пробірку додавали 3 мл середовища Lymphoprep і повільно додавали 6 мл розведеної суміші лімфоцитів на поверхню середовища Lymphoprep. Суміш лімфоцитів центрифугировали при 800 г протягом 30 хвилин без перерв при 20 °C. Потім лімфоцитарну плівку збирали за допомогою піпетки 200 мкл. Зібрану фракцію розбавляли щонайменше в 6 разів 0,9 % NaCl або R10 для зменшення щільності розчину. Зібрану фракцію потім центрифугували при 250 г протягом 10 хвилин при 20 °C. Весь супернатант аспірували і до осаду клітин додавали 10 мл R10 для ресуспендування клітинного осаду. Суміш потім центрифугували при 250 г протягом 10 хвилин при 20 °C. Супернатант знову аспірували. В осад клітин додавали 2 мл попередньо нагрітого до 37 °C R10 з 100 МО/мл IL-2, і осад клітин обережно ресуспендували. Число клітин визначали після фарбування трипановим синім, і цей зразок МКПК був готовий для подальших експериментів.

Очищення Т-клітин

Т-клітини людини очищали від МКПК за допомогою набору для виділення Т-клітин Miltenyi Pan (Miltenyi Pan T cell isolation kit) (№ за каталогом 130-096-535) згідно з протоколом виробника, як описано нижче. В першу чергу визначали число клітин, і суспензію клітин центрифугували при 300 г протягом 10 хвилин. Потім супернатант аспірували повністю, а клітинні гранули повторно суспендували в 40 мкл буфера на 10^7 загальної кількості клітин. 10 мкл суміші Т-клітинного біотину і антитіла Pan (Pan T Cell Biotin-Antibody Cocktail) додавали на 10^7загальної кількості клітин, ретельно перемішували і інкубували протягом близько 5 хвилин в холодильному апараті (2 ~ 8 °C). Потім додавали 30 мкл буфера на 10^7 загальної кількості клітин. 20 мкл суміші Т-клітинних мікрогранул Pan (Pan T Cell MicroBead Cocktail) додавали на 10^7 клітин. Суміш суспензії клітин добре перемішували та інкубували протягом ще 10 хвилин в холодильному апараті (2-8 °C). Для поділу в магнітному полі потрібно мінімум 500 мкл. Для поділу в магнітному полі колонку LS поміщали в магнітне поле відповідного сепаратора MACS. Колонку готували шляхом промивання 3 мл буфера. Суспензію клітин потім наносили на колонку і збирали фільтрат, що містить немічеьї клітини, які являли собою фракції збагачених Т-клітин. Додаткові Т-клітини отримували шляхом промивання колонки 3 мл буфера і збору немічених клітин, які потрапляли у фільтрат. Як і в попередньому випадку, ці немічеьї клітини являли собою збагачені Т-клітини і були об'єднані з фільтратом, отриманим на попередньому етапі. Об'єднані збагачені Т-клітини потім центрифугували і повторно суспендовалм в R10+100 МО/мл IL-2.

Підготовлені Т-клітини потім попередньо активували протягом 48-96 годин за допомогою набору для активації/розмноження Т-клітин людини (Miltenyi # 130-091-441) згідно з протоколом виробника, в якому частинки MACSiBead aHTH-CD3/CD28 додавали у співвідношенні" ранула-клітина" 1:2.

Аналіз цитотоксичностіш vitro

Попередньо активовані Т-клітини трансдукували лентивірусним матеріалом в присутності 7 мкг/мл полібрена шляхом центрифугування при 1200 г, 32 °C протягом 1,5 год. Трансдуковані клітини потім переносили в інкубатор для клітинної культури з метою експресії трансгену в придатних умовах.

На день 3 або день 7 після трансдукції трансдуковані Т-клітини збирали і спільно інкубували з пухлинними клітинами протягом 20 годин при співвідношенні ефекторних клітин (CAR-T) і клітин-мішеней 20: 1. Клітинами-мішенями були або лінія клітин множинної мієломи людини K562. BCMA.Luc, які рекомбінантно експресували BCMA, лінія клітин K562. CD 19.Luc, які рекомбінантно експресували CD 19, або лінія клітин гліобластоми людини U87MG.Luc. Всі лінії клітин були сконструйовані на власній базі для експресії люциферази світлячків. Для аналізу цитотоксичності CAR-T, спрямованої на пухлинні клітини, реагенти для аналізу люмінесценції люциферази ONE-GLO™ (Promega # E6110) готували відповідно до протоколу виробника і додавали до клітин, які спільно культивувалися, для виявлення залишкової активності люциферази в лунці. Оскільки люцифераза експресується тільки в клітинах-мішенях, то залишкова активність люциферази в лунці безпосередньо корелює з кількістю життєздатних клітин-мішеней в лунці. Максимальну активність люциферази отримували шляхом додавання культурального середовища до клітин-мішеней при відсутності ефекторних клітин. Мінімальну активність люциферази визначали додаванням Triton X-100 при кінцевій концентрації 1 % в той момент, коли починали дослідження цитотоксичності. Специфічну цитотоксичність розраховували за формулою: Специфічна цитотоксичність% = 100 % * (1-(RLU зразка - RLUmin) / (RLUmax-RLUmin)).

Типовий одновалентний CAR, націлений на BCMA (CD269), вибирали і тестували в аналізі цитотоксичності. Як проілюстровано на Фіг. 1A, серед першої групи протестованих одновалентних BCMA CAR, відібрані клони проявляли різні рівні цитотоксичності, направленої на лінії клітин множинної мієломи RPMI8226.Luc. з більш ніж 60 % одновалентних CAR-T на основі VhH, що демонструють > 50 % цитотоксичності, направленої на клітини RPMI8226.Luc. Клони CAR-T на основі 269A37346, 269A37348, 269A37353 і 269A37355 відбирали для подальшого дослідження. Зокрема, клони CAR-T на основі 269A37346, 269A37348, 267A37353 і 269A37355 проявляли сильну цитотоксичність, направлену на лінію клітин множинної мієломи RPMI8226.Luc з більш ніж 20 % -30 % підвищенням рівня загибелі клітин RPMI8226.Luc, обумовленої CAR -T, в порівнянні з нетрансдукованими контрольними Т-клітинами (UnT). Проте, такого підвищення цитотоксичності, направленої на лінії клітин гліобластоми людини U87MG.Luc, не спостерігали (див. ФІГ. 1B). Не виявлено жодних достовірних ефектів цитотоксичності, які проявляли б одновалентні CAR-T-клітини на основі VhH, направлених на клітини U87MG.Luc, в порівнянні з контрольними UnT. Спостереження, описані вище,

продемонстрували, що деякі з цих клонів можуть бути цілеспрямованими і мають вплив на BCMA-позитивні клітини.

Другу групу типових одновалентних BCMA CAR оцінювали щодо цитотоксичності in vitro. GSS005, CAR, що містить анти-BMCA scFv, застосовували в якості позитивного контролю. GSI026, CAR, що містить анти-EGFRvIII scFv, застосовували в якості негативного контролю. Як проілюстровано на Фіг. 2A-2B, відібрані клони проявляли різні рівні цитотоксичності, направленої на лінії клітин множинної мієломи RPMI8226.Luc, і BCMA, який надмірно експресує стабільну лінію клітин K562. BCMA.Luc. Жодні клони не виявляли сильної цитотоксичності, направленої на BCMA-негативну лінію клітин K562. CD 19.Luc (Фіг. 2C). Серед цих клонів, CAR-T на основі 269B005S, 269B028S, 269B030S, 269B054S, 269B060S, 269B069S, 269B093S, 269B094S, 269B104S, 269B109S, 269B110S і 269B129S були найбільш сильними щодо даних цитотоксичності.

Вивільнення IFN-гамма

Крім того, супернатанти з аналізів спільного культивування in vitro збирали для оцінки вивільнення цитокінів, індукованого CAR, наприклад, вивільнення інтерферону гамма (тобто IFNγ). Як проілюстровано на Фіг. 3, Т-клітини, які експресують відібрані одновалентні BCMA CAR, вивільняли високі рівні IFNγ при спільному культивуванні з BCMA-експресуючими клітинами-мішенями K562. BCMA.Luc. Неспецифічні CAR-T, як-от GSI026, або нетрансдуковані Т-клітини (UnT), не індукували вивільнення IFNγ у спільній культурі. Дані про вивільнення цитокінів узгоджуються з даними цитотоксичності in vitro.

Приклад 3. Отримання типових мультивалентних химерних антигенних рецепторів BCMA

Мультивалентні CAR на основі V_HH можна сконструювати шляхом клонування послідовності нуклеїнової кислоти, що кодує безліч копій V_HH, або безліч різних V_HH, злитих з кожним іншим за допомогою пептидних лінкерів, у каркасний вектор сигнального домену CAR. Типові мультивалентні конструкції BCMA CAR наведені в Таблиці 5. Ці конструкції отримували шляхом злиття 2-3 анти-BCMA V_HH за допомогою гліцин-серинового пептидного лінкеру з подальшим безпосереднім синтезом цієї злитої послідовності в комбінації з послідовністю нуклеїнової кислоти сигнального пептиду Kozak-CD8α, і клонуванням в каркас PLLV-hEF1α-81373 CAR за допомогою ділянок рестрикції EcoRI і SpeI. Моновалентні конструкції BCMA CAR також клонували в один і той же каркас PLLV-hEF1α-81373 CAR в якості контролів (наприклад, GSI5011, GSI5019 і GSI5020, Таблиця 4).

Лентивірусні вектори, що несуть гени CAR, упаковували і титрували відповідно до протоколів, як описано в Прикладі 2. Застосовуючи протоколи, описані в Прикладі 2, МКПК людини отримували з периферичної крові добровольців для подальшого виділення первинних Т-клітин людини за допомогою наборів для виділення Т-клітин людини Miltenyi Pan (Miltenyi human PanT cell isolation kit). Очищені Т-клітини попередньо активували і розмножували із застосуванням мікрогранул анти-CD3/CD28 Miltenyi, як описано в Прикладі 2. Після цього попередньо активовані Т-клітини трансдукували лентивірусним матеріалом в присутності 7 мкг/мл полібрена шляхом центрифугування при 1200 г, 32 °C протягом 1,5 год. Трансдуковані клітини потім переносили в інкубатор для клітинної культури з метою експресії трансгену в придатних умовах.

Аналіз цитотоксичностіш vitro

На день 3 після трансдукції трансдуковані Т-клітини збирали і спільно інкубували з пухлинними клітинами. Для аналізу цитотоксичності CAR-T, направленої на пухлинні клітини, реагенти для аналізу люмінесценції люциферази ONE-GLO™ додавали до клітин, що спільно культивувалися, і вимірювали специфічну цитотоксичність для кожного CAR-T, як описано в Прикладі 2.

У першому експерименті одновалентні BCMA CAR (GSI5011), двовалентні BCMA CAR (GSI5014) і тривалентні BCMA CAR (GSI5015), які експресують Т-клітини, спільно інкубували протягом 20 годин з клітинами RPMI8226.Luc при співвідношенні ефекторних клітин і клітин-мішеней 20: 1. Всі три конструкції CAR містять домени BCMA VHH клону 269A37346. Як проілюстровано на Фіг. 4A, питомий відсоток лізису клітин RPMI8226.Luc становив 63,25±2,64 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5011, 61,04±2,75 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5014, і 59,57±2,64 % для CAR-Т-клітин, що експресують GSI5015, в порівнянні з неспецифічним лізисом (0,05 % ± 2,33 %), обумовленим нетрансдукованими контрольними Т-клітинами (UnT). Проаналізовані BCMA CAR з різними антигензв'язуючими модальностями мають сильну протипухлинну активність, направлену на BCMA-позитивні клітини.

У другому експерименті аналізували типові двовалентні BCMACAR (GSI5021-GSI5026), що мають два різних BCMA-зв'язуючих фрагмента: 269A37353 і 269A37917. Сконструйовані Т-клітини, які експресують кожен двовалентний BCMA CAR, спільно інкубували протягом 20 годин

з клітинами RPMI8226.Luc при співвідношенні ефекторних клітин і клітин-мішеней 20: 1. Моновалентні BCMA CAR, GSI5019 і GSI5020, також аналізували для порівняння. Як проілюстровано на Фіг. 4B, питомий відсоток лізису клітин RPMI8226.Luc становив 88,21±1,29 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5019, 93,84±1,13 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5020, 71,45±1,79 % для CAR-T клітин, що експресують GSI5021, 99,80±0,45 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5022, 97,46±0,50 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5023, 81,29±1,27 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5024, 93,50±0,47 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5025, 87,83±0,23 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5026, відповідно, в порівнянні з нетрансдукованими контрольними Т-клітинами - 13,49 % ± 1,75 % (UnT). Як проілюстровано на Фіг. 4C, питомий відсоток лізису BCMA-негативної лінії клітин U87MG.Luc склав 2,84±7,41 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5019, 15,50±2,24 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5020, 6,74±3,37 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5021, 8,03±2,36 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5022, 9,00±1,88 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5023, 17,03±2,27 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5024, 16,81±1,98 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5025, -11,55±5,43 % для CAR-T-клітин, що експресують GSI5026, в порівнянні з нетрансдукованими контрольними Т-клітинами - 12,49 % ± 3,79 % (UnT). Наведені дані свідчать про те, що двовалентні CAR з різними антигензв'язуючими модальностями мають сильну протипухлинну активність, направлену на BCMA-позитивні клітини, але не на BCMA-негативні клітини.

У третьому експерименті конструювали типові двовалентні BCMA CAR (тобто BCAR001-BCAR008), що мають два різні BCMA-зв'язуючі фрагменти, а сконструйовані CAR-T-клітини, які експресують двовалентні BCMA CAR, готували з первинних Т-клітин, отриманих від пацієнта-донора R/R MM #13. В якості клітин-мішеней застосовували лінії клітин люциферази світлячків власної розробки, в тому числі RPMI8226 (лінія клітин множинної мієломи людини), A549 (лінія клітин раку легенів людини), U87-MG (лінія клітин гліобластоми людини) і Raji (лінія клітин лімфоми Беркітта людини) і спільно культивували з кожною групою трансдукованихТ-клітин одночасно (при співвідношенні ефекторних клітин і клітин-мішеней 20: 1 або 5: 1) протягом 20 годин в інкубаторі для клітин при 37 °C / 5 % CO_2. Після завершення спільного культивування, залишкову активність люциферази (відносна світлова одиниця, RLU) аналізували за допомогою набору для аналізу люмінесценції люциферази ONE-GLO (Promega) з метою оцінки цитотоксичності кожного CAR-T. Як проілюстровано на ФІГ. 5A-5E, двовалентні BCMA CAR-T володіли дозозалежною цитотоксичністю по відношенню до клітин RPMI8226.Luc, K562. BCMA.Luc і Raji.Luc, а також незначну цитотоксичність по відношенню до BCMA-негативних клітин A549.Luc і U87-MG.Luc. Дані на Фіг. 5F демонструють, що цитотоксичність двовалентних BCMA CAR-T-клітин, направлена проти пухлинних клітин, є BCMA-специфічною, оскільки CAR-T-клітини не є цитотоксичними по відношенню до клітин K562. C38.Luc, які були $CD38^{+}$/ BCMA". Клітини K562. BCMA.Luc, оброблені тільки BCAR001-BCAR008 CAR-T-клітинами, продемонстрували обмежену залишкову активність люциферази (тобто, життєздатні клітини) в порівнянні з клітинами-мішенями, обробленими UnT (2,88±0,45 %, 12,84±1,67 %, 2,22±0,56 %, 1,77±0,14 %, 2, 59±0,28 %, 6,58±1,19 %, 2,47±0,20 %, 6,61±1,47 % для BCAR001-BCAR008 відповідно, в порівнянні з UnT 100±3,95 %, середнє ± стандартна помилка). Ці результати демонструють сильну цитотоксичність двовалентних клітин BCMA CAR-T-клітин, направлену проти клітин K562. BCMA.Luc. BCAR001-BCAR008 CAR-T-клітини не володіли значною цитотоксичністю проти клітин K562.CD38.Luc, оскільки ніякого значного зниження активності люциферази не було виявлено в порівнянні з клітинами-мішенями, обробленими UnT (111,82±5,11 %, 111,72 ± 3,43 %, 104,74±0,24 %, 95, 04±2, 70 %, 93, 93±7, 23 %, 97, 72±1, 86 %, 111, 90±2, 01 %, 108, 33±4,05 %, для BCAR001-BCAR008 відповідно, в порівнянні з UnT 100±6,58 %, середнє ± стандартна помилка). Ці дані свідчать про те, що цитотоксичність двовалентного BCMA CAR-T є BCMA-залежною.

Вивільнення IFN-гамма

Крім того, супернатанти з аналізів спільного культивування in vitro збирали для оцінки вивільнення цитокінів, індукованого CAR (наприклад, інтерферону гамма, вивільнення IFNγ). Як проілюстровано на Фіг. 6A-6B, вивільнення IFNγ в аналізах зі спільною культурою було CAR-залежним і BCMA-специфічним, що узгоджується з даними цитотоксичності in vitro (Таблиця 6).

Таблиця 6

Вивільнення IFN-гамма в аналізах спільної культури за допомогою двовалентного BCMA CAR-T

	RPMI8226.Luc.		A549.Luc		K562.CD38.Luc.		Raj i.Luc	
	Середи є, пг/мл	СП	Середи є, пг/мл	СП	Середи є, пг/мл	СП	Середнє пг/мл	СП
BCAR001	1097,23	61,87	89,18	42,19	135,81	5,87	795,87	7,29
BCAR002	4651,22	1,13	503,63	130,73	361,87	49,68	3613,30	34,04
BCAR003	3569,84	108,19	243,82	1,31	265,08	3,24	3348,66	49,80
BCAR004	3077,41	110,82	161,70	12,97	128,50	17,08	2931,11	120,31
BCAR005	2850,34	20,16	170,90	8,27	141,20	17,54	2976,27	67,22
BCAR006	2023,71	37,61	223,96	6,21	215,00	17,87	1588,54	77,96
BCAR007	1912,98	2,28	239,43	1,93	289,72	1,94	1472,87	49,76
BCAR008	1798,90	76,85	258,71	19,39	171,89	6,51	1526,93	66,70
UnT	281,75	20,55	143,70	10,46	85,65	1,98	328,61	6,69

Число копій інтегрованих генів CAR

Число копій інтегрованих генів CAR для кожної групи трансдукованих Т-клітин визначали за допомогою напівкількісного методу ПЛР (кілПЦР). Якщо коротко, геномну ДНК з кожної групи CAR-T отримували за допомогою набору Gentra Puregene Cell Kit (Qiagen). Концентрацію геномної ДНК визначали за допомогою Nanodrop, а зразок 10 г геномної ДНК для стандартизованого аналізу методом кілПЦР обробляли для аналізу за допомогоюстокової суміші для ПЛР у реальному часі (SYBR Green Realtime PCR Master mix plus (Toyobo)) на пристрої q-PCR ABI # 7300 із застосуванням специфічних праймерів CAR (прямий праймер 137P2F (SEQ ID NO: 398: 5'-GTCCTTCTCCTGTCACTGGTTAT-3'; і зворотний праймер 137P2R, SEQ ID NO: 399: 5'-TCTTCTTCTTCTGGAAATCGGCA-3'). Відносну кількість копій кожного інтегрованого гена CAR вираховували на підставі стандартної кривої, отриманої за допомогою плазміди, що містить цільові послідовності.

Як видно з Таблиці 7, високе число копій вектора CAR було інтегровано в геном Т-клітин у кожному препараті CAR-T.

Таблиця 7

Кількість копій інтегрованого генома

CAR Т-клітини з конструкціями	Копії/нг гДНК
GSI5019	35091,6
GSI5020	27627,2
GSI5021	24926,8
GSI5022	26393,6
GSI5023	32376,3
GSI5024	39319,8
GSI5025	22269,3
GSI5026	34790,4
UnT	26,6

Приклад 4. Картування епітопів і диференціальне зв'язування епітопів двох доменів V_HH в LCAR-B38M

Картували епітопи чотирьох доменів анти-BCMA V_HH. Сконструювали типовий двовалентний BCMA CAR, що має два різних домени анти-BCMA V_HH, які специфічно зв'язуються з різними епітопами BCMA. Двовалентний/двоепітопний CAR, що містить V_HH1 і V_HH2, який називається LCAR-B38M CAR, являє собою один мультивалентний BCMA CAR, вказаний у Таблиці 5.

Аналіз поверхневого плазмонного резонансу (ППР).

Кожну з чотирьох типових послідовностей анти-BCMA VhH клонували у вектор, що містить послідовність Fc-фрагмента IgG1 людини (hIgG1Fc), щоб полегшити рекомбінантну експресію BCMA V_HH-hIgG1Fc. Рекомбінантні білки отримували і очищали для аналізів ППР.

Афінність кожного V_HH-hIgG1Fc для BCMA визначали за допомогою ППР із застосуванням аналітичної системи BIACORE® 2000 (GE Healthcare). Якщо коротко, кожен протеїн VHH-hIgG1Fc ковалентно зв'язувався із сенсорним чіпом CM5 (s) із застосуванням 4 мкг/мл V_HH-hIgG1Fc. Рекомбінантний білок BCMA-His (ACRO Biosystems, № за каталогом BCA-H522y) серійно розводили в рухомому буфері (10 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 3 мМ ЕДТК, 0,05 % Твін-20, pH 7,4) і вводили при витраті 10 мкл/хв з подальшою дисоціацією. Константи швидкості асоціації і дисоціації визначали із застосуванням оціночного програмного забезпечення BIACORE® 2000 версії 3. 0 (зв'язування Ленгмюра, локальна підгонка, модель зв'язування 1:1). Показники афінності зв'язування чотирьох V_HH-hIgG1Fc наведені в Таблиці 8.

Таблиця 8

Афінності зв'язування V_HH-hIgG1Fc з білком BCMA-His людини.

Ліганд	k_a(1/Мс)	k_d(1/с)	K_D(M)
V_HH1-hIgG1Fc	5,5E+04	<1,0E-05 *	<1,8E-10 *
V_HH2-hIgG1Fc	1,9E+06	1,5E-02	7,8E-09
V_HH3-hIgG1Fc	3,4E+04	1,7E-04	5,1E-09
V_HH4-hIgG1Fc	2,1E+06	9,4E-04	4,6E-10

Зв'язування рекомбінантних білків VhH-His з клітинами-мішенями

Рекомбінантні білки анти-BCMA VhH-FHs конструювали шляхом злиття послідовності анти-BCMA VhH із сигнальною пептидною послідовністю альбуміну людини (N'-MKWVTFISLLFLFSSAYS-C '; SEQ ID NO: 386) на N-кінці і oxHis-тега (N^1-GSGHHHHHH-C; SEQ ID NO: 387) на С-кінці. Кодони додатково оптимізували для оптимальної експресії в клітинах-хазяїнах ссавців. Отримані нуклеотидні послідовності потім клонували в експресійний вектор ссавця pTT5 через ділянки рестрикції 5'-XbaI і 3'-HindIII з отриманням плазмід pTT5-LAB001 (для V_HH1), pTT5-LAB002 (для V_HH2) і pTT5-LAB003 (для V_HH1 x V_HH2).

Для отримання рекомбінантних білків BCMA VhH клітини HEK293T тимчасово трансфікували вказаними плазмідами. Якщо коротко, клітини HEK293T в кількості 5×10^6 висівали в 10 см чашки для культур клітин за день до трансфекції. На наступний день клітини трансфікували кожною плазмідою із застосуванням реагенту LIPOFECTAMINE™ 2000 Reagent (Thermofisher Scientific, номер за каталогом: 11668-019) відповідно до інструкцій виробника. Через чотири дні після трансфекції супернатант збирали і рівні експресії антитіл визначали за допомогою ІФА із застосуванням HRP анти-His тега (Biolegend, номер за каталогом: 652 504). Рівні експресії LAB001, LAB002 і LAB003 склали 109,31 нг/мл, 152,48 нг/мл і 396,62 нг/мл відповідно.

Афінності зв'язування білків LAB001, LAB002 і LAB003 анти-BCMA V_HH-His визначали за допомогою клітинних аналізів. Якщо коротко, серійно розведені білки анти-BCMA V_HH-His інкубували з клітинами-мішенями в кількості 1×10^5 (клітини K562. BCMA.Luc або K562.CD38.Luc, які були лініями клітин власної розробки і стабільно експресували BCMA або CD39 відповідно) при 4 °С протягом 2 годин. Потім клітини центрифугували при 300 г протягом 10 хв і супернатант зливали. Клітинний осад повторно суспендували в ФСБД. Клітинний осад промивали, центрифугували і супернатант зливали ще 2 рази. Потім клітинний осад повторно суспендували протягом 45 хв з детектуючим антитілом (THE™ His тег антитіло [FITC], номер за каталогом

GenScript: A0 1620), що містить буфери, при 4 °С протягом 2 годин. Потім клітини центрифугували при 300 г протягом 10 хв і супернатант зливали. Клітинний осад промивали, центрифугували і супернатант зливали ще 2 рази. Афінності зв'язування LAB001, LAB002 і LAB003 з клітинами K562. BCMA.Luc або K562.CD38.Luc визначали за допомогою проточного цитометра ATTUNE™ Nxt. Дані апроксимували за допомогою GraphPad PRISM™ версії 6. 0, використовуючи "специфічне для одного сайту зв'язування з кутовим коефіцієнтом Хілла".

Як проілюстровано на Фіг. 7A-7C, LAB001, LAB002 і LAB003 специфічно зв'язуються з клітинами K562. BCMA.Luc в дозозалежний спосіб. Афінності зв'язування складають 0,079 нМ, 0,035 нМ і 0,0047 нМ відповідно. Жодне з антитіл не проявляло значного зв'язування з BCMA-негативной лінією клітин K562.CD38.Luc. Більш того, LAB003 (V_HH1 x V_HH2) продемонстрував значно вищу афінність зв'язування (0,0047 нМ), ніж LAB001 (V_HH1) або LAB002 (V_HH2).

Зв'язування епітопів

BCMA (NP_001183, UniProt # Q02223) являє собою трансмембранний білок довжиною 184 амінокислот. BCMA людини складається з позаклітинного домену (ECD, амінокислотний залишок номер 1-54), трансмембранного домену (TM, амінокислотний залишок номер 55-77) і

цитоплазматичного домену (CD, амінокислотний залишок номер 78-184). Крім того, аналіз послідовності передбачає, що BCMA не має сигнального пептиду, який можна розпізнати, на своєму N-кінці (Laabi Y et al. (1992) EMBO J 11: 3897-3904; Laabi Y et al. (1994) Nucleic Acids Res 22: 1147-1154; Gras M P (1995) Int Immunol 7: 1093-1106; Hong-Bing Shu and Holly Johnson (2000): Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 10. 1073).

Як також проілюстровано в онлайн-базі даних UniProt (загальний доступ: web. uniprot. org/uniprot/Q02223), 3 дисульфідних зв'язки (Cys-Cys) розташовані в ECD BCMA, які знаходяться в положеннях 8 ↔ 21, 24 ↔ 37 і 28 ↔ 41 (Таблиця 9). Вторинна структура BCMA ECD від N-кінця до C-кінця складається з бета-ланцюга (аа12-15), повороту (ааіб-19), бета-ланцюга (аа20-23), спіралі (аа 24-27), бета-ланцюга (аа30-32), спіралі (аа35-37), повороту (аа38-40) і повороту (аа42-44). На Фіг. 8A зображена структура BCMA ECD, який реплікований зі структури з бази даних PDB із загальним доступом: web. ebi. ac. uk/pdbe/entry/pdb/2kn1/.

Таблиця 9

Білкові послідовності BCMA людини

Положення	Опис	Довжина	Послідовність AA
-54	Позаклітинний домен	54	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPC QLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSV KGTNA (SEQ ID NO: 395)
55-77	Трансмембранний домен	23	ILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLL (SEQ ID NO: 396)
78-184	Цитоплазматичн ий домен	107	RKINSEPLKDEFKNTGSGLLGMANI DLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTC EDCIKSKPKVDSDHCFPLPAMEEG ATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEI EKSISAR (SEQ ID NO: 397)

Епітопні пептиди BCMA (269EP001-269EP007) були сконструйовані так, як продемонстровано на Фіг. 8B і в Таблиці 10, і хімічно синтезовані і біотинільовані на N-кінці. Афінності зв'язування V_HH1-hIgG1Fc або V_HH2-hIgG1Fc визначали за допомогою ІФА. Якщо коротко, описані вище пептиди наносили на планшет MAXISORP ELISA в кількості 1 мкМ на ніч при 4 °C. На наступний день планшети промивали PBST (додавали 0,5 % TBIH-20) двічі, а потім планшет блокували за допомогою 0,5 % BSA при кімнатній температурі протягом 1 години. Планшети потім двічі промивали PBST з подальшим додаванням серійно розведеного V_HH1-hIgG1Fc або V_HH2-hIgG1Fc в концентрації 10 нм в трьох повторах, потім інкубували при 4 °C протягом 2 годин. Планшети потім промивали 3 рази холодним PBST, після чого в кожну лунку додавали козяче анти-Llama-HRP (I: 1500, Bethyl Lab # AI60) і додатково інкубували при кімнатній температурі протягом 1 години. Планшети потім промивали 4 рази PBST, в кожну лунку додавали субстрати TMB та інкубували при кімнатній температурі протягом 10-30 хв. Потім планшети зчитували на зчитувальному пристрої для мікропланшетів TECAN® 10M з абсорбцією при 450 нм.

Таблиця 10

Послідовності епітопного пептиду BCMA

Епітоп	Положення	Послідовність амінокислотних залишків	Довжина
269EP001	1-10	MLQMAGQCSQ (SEQ ID NO: 388)	10
269EP002	8-21	CSQNEYFDSLLHAC (SEQ ID NO: 389)	14
269EP003	11-23	NEYFDSLLHACIP (SEQ ID NO: 390)	13
269EP004	20-30	ACIPCQLRCSS (SEQ ID NO: 391)	11
269EP005	24-42	CQLRCSSNTPPLTCQRYCN (SEQ ID NO: 392)	19
269EP006	36-43	LTCQRYCNAS (SEQ ID NO: 393)	10
269EP007	43-54	ASVTNSVKGTNA (SEQ ID NO: 394)	12

Як проілюстровано на Фіг. 9A, VhHI продемонстрував найсильніше зв'язування з пептидом 269EP005, після чого - з пептидом 269EP004. Однак зв'язування V_HH1 з 269EP003 і 269EP006 було відносно слабким у порівнянні з 269EP005 і 269EP004. V_HH1 має тенденцію зв'язувати

епітоп, розташований у пептиді 269EP005 (тобто амінокислота 24-36 BCMA ECD), який містить вторинні структури спіралі (aa24-27), бета-ланцюг (aa30-32) і спіраль (aa35-37).

Як проілюстровано на Фіг. 9B, V_HH2 продемонстрував найсильніше зв'язування з пептидом 269EP002, після чого - з пептидом 269EP003. Однак зв'язування V_HH1 з 269EP001 і 269EP004 було відносно слабким у порівнянні з 269EP002 і 269EP003.

У той час як перший бета-ланцюг (aa12-15) і бета-ланцюг (aa20-23) BCMA ECD в основному розташовані в послідовності, яку охоплює 269EP002 (aa8-21) і 269EP003 (aa11-23), V_HH2 має тенденцію зв'язуватися з епітопом, розташованим у перших двох бета-ланцюгах.

Аналіз конкурентного зв'язування

Діференціальне зв'язування V_HH1 і V_HH2 з епітопом додатково перевіряли за допомогою конкурентного клітинного аналізу зв'язування. В аналізі застосовували стабільну лінію клітин CHO, яка експресує BCMA людини ("CHO-BCMA").

Якщо коротко, клітини CHO-BCMA в кількості 0,5 x 10 попередньо інкубували з 12,5 нг/мл LAB001 (який містить 6xHis тег на С-кінці) при 4 °С протягом 0,5 години в двох повторах. Потім до кожної лунки планшета додавали серійно розведене рекомбінантне антитіло V_HH2-hIgG1Fc і додатково інкубували при 4 °С протягом ще 1 години. Після інкубації клітини промивали за допомогою 500 мкл ФСБД і центрифугували при 300 г протягом 10 хв. Клітинний осад повторно суспендували в ФСБД, що містить анти-His тег-FITC (I: 200, номер за каталогом у GenScript: A16020), потім клітини промивали за допомогою 500 мкл ФСБД і центрифугували при 300 г протягом 10 хв. Клітинний осад повторно суспендували в ФСБД і потім піддавали аналізу FACS на проточному цитометрі ATTUNE™ Nxt. В якості контролю аналізу, серійно розведений V_HH2-hIgG1Fc безпосередньо інкубували з клітинами CHO-BCMA без присутності LAB001, слідуючи ідентичним процедурам для одночасного аналізу, описаним вище. Для визначення зв'язування V_HH2-hIgG1Fc з клітинами CHO-BCMA застосовували козяче антитіло проти людського IgG (Fc-специфічне)-PITC (Sigma Aldrich, № за каталогом: F9512). Як проілюстровано на Фіг. 10, V_HH2-hIgG1Fc самостійно зв'язується з CHO-BCMA в дозозалежний спосіб. Однак V_HH2-hIgG1Fc не зміг конкурувати зі зв'язуванням V_HH1-His з клітинами CHO-BCMA, що вказує на різні ділянки зв'язування V_HH1 і V_HH2 на BCMA.

Приклад 5. Ефективність LCAR-B38M CAR-T в моделі ксенотрансплантата пухлини у мишей in vivo

Протипухлинну ефективність LCAR-B38M CAR-T-клітинш vivo оцінювали в моделі миші NCG (NOD-Prkdc^{em26Cd52}I12rg^{em26Cd22}/ NjuCrl) з ксенотрансплантатом пухлини множинної мієломи. LCAR-B38M CAR являє собою двовалентний BCMA CAR, що має два домени анти-BCMA V_HH, які націлені на різні епітопи BCMA.

Модель миші NCG створювали шляхом послідовного редагування CRISPR/Cas9 локусів Prkdc і I12rg в організмі миші NOD/Nju, отримуючи таким чином мишу, коізогенну для NOD/Nju. Миша NOD/Nju несе мутацію в гені Sirpa (SIRP α), що дозволяє приживляти чужорідні кровотворні стовбурові клітини. Нокаут Prkdc генерує SCID-подібний фенотип з порушенням утворення Т-клітин і В-клітин. Нокаут гену I12rg ще більше посилює SCID-подібний фенотип, а також призводить до зменшення продукції NK-клітин. Таким чином, миша NCG являє собою лінію мишей з "потрійним імунодефіцитом", які є в більшій мірі імуноскомпрометованими, ніж лінії мишей з імунодефіцитом, що зазвичай використовуються, включаючи SCID і безтимусних мишей.

Prkdc і 112 rg є частиною сімейства генів SCID (важкого комбінованого імунодефіциту), що впливають на дозрівання і утворення Т-клітин, В-клітин, NK-клітин і, в меншій мірі, дендритних клітин. Prkdc кодує каталітичну субодиницю ДНК-залежного ферменту протеїнкінази, яка необхідна для рекомбінації V(D)J, процесу, що є необхідним для забезпечення різноманітності антитіл в Т- і В-клітинах, що дозрівають. 112 rg кодує загальну субодиницю гамма, виявлену в IL-2 і множинних IL-рецепторах (IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 і IL-21), які необхідні для індукування опосередкованої цитокіном передачі сигналів для дозрівання незрілих лімфоцитів {наприклад, Т-, В-і NK-клітин) та інших лейкоцитів.

LCAR-B38M CAR-T-клітини отримували із застосуванням Т-клітин від різних донорів з метою скринінгу на предмет виявлення джерела Т-клітин, що забезпечує отримання CAR-T з найвищою ефективністю знищення клітин RPMI8226.Luc in vitro (Фіг. 11). На підставі результатів, наведених на Фіг. 11, LCAR-B38M CAR-T-клітини отримували із застосуванням Т-клітин вибраного донора для аналізу тварин in vivo. На Фіг. 12A проілюстрована дозозалежна цитотоксичність in vitro цього масиву LCAR-B38M CAR-T-клітин. Для створення ксенотрансплантата пухлини, мишам NCG внутрішньовенно вводили клітини RPMI8226.Luc. Через 14 днів мишам із прищепленими пухлинами вводили LCAR-B38M CAR-T-клітини або нетрансдуковані Т-клітини, а потім здійснювали біолюмінісцентну візуалізацію in vivo (BLI).

Як проілюстровано на Фіг. 12B-12C, LCAR-B38M CAR-T-клітини були ефективні для ерадикації прищеплених пухлинних клітин RPMI8226.Luc у мишей NCG і для виживання мишей, тоді як більшість мишей в групі контролю (UnT) загинули протягом 4 тижнів. Цікавим є той факт, що при аутопсії в печінці всіх мишей в групі UnT спостерігали численні метастатичні пухлини. Це спостереження додатково підтверджувалося при оцінці активності люциферазиех vivo із зразків пухлини (Фіг. 12D-12E). Навпаки, у мишей, які отримували LCAR-B38M CAR-T метастатичних пухлин у печінці не було. Таким чином, дослідження in vivo демонструє активність LCAR-B38M CAR-T-клітин при елімінації клітин множинної мієломи (наприклад, RPMI8226.Luc) у мишей NCG.

Приклад 6. Дослідження безпеки застосування LCAR-B38M CAR-T у нелюдиноподібних приматів

Безпеку LCAR-B38M CAR-T-клітин in vivo оцінювали в моделі яванського макака. МКПК отримували із зразків периферичної крові двох мавп (NHP # 120117 і NHP # 120545, обоє - самці, близько 4 кг) і готували за допомогою центрифугування в градієнті щільності. Т-клітини яванського макака виділяли з МКПК із застосуванням набору для виділення Т-клітин у нелюдиноподібних приматів Miltenyi Pan (Miltenyi # 130-091-993) згідно з протоколом виробника. Підготовлені Т-клітини мавп попередньо активували за допомогою набору для активації/розмноження Т-клітин нелюдиноподібних приматів (Miltenyi # 130-092-919), IL-2 людини і аутологічної сироватки мавп протягом 3 днів. Після цього попередньо активовані Т-клітини трансдукували лентивірусом LCAR-B38M з подальшим розмноженням протягом 10 додаткових днів.

За 3 дня до інфузії аутологічних CAR-T-клітин мавпам попередньо вводили циклофосфамід в дозі 22 мг/кг маси тіла шляхом внутрішньовенної інфузії. У день аутологічної інфузії клітини розморожували на водяній бані з температурою 37 °C при обережному перемішуванні круговими рухами і відразу ж внутрішньовенно вводили тваринам протягом не більше 5 хвилин. Мавпі NHP # 120117 вводили 5 x 10 /кг CAR-T-клітин, а мавпі NHP # 120545 вводили 4 x 10^7/кг CAR-T-клітин.

Мавп контролювали після введення Т-клітин на предмет лихоманки, респіраторного дистресу, зміни апетиту, діареї і втрати ваги. На зразках крові, відібраних до і після введення Т-клітин, виконували ЗАК, біохімічний аналіз сироватки і визначали рівень цитокінів. Як проілюстровано на Фіг. 13A-13F, CAR-T-клітини не характеризувалися значною токсичністю у мавп.

Приклад 7. Клінічне дослідження LCAR-B38M CAR-T у пацієнтів-людей з рефрактерною/рецидивуючою множинною мієломою

Для визначення безпеки та ефективності LCAR-B38M CAR-T-клітин для лікування пацієнтів з діагнозом рефрактерної або рецидивуючої множинної мієломи ("r/r MM") було проведено непорівняльне, відкрите, мультицентрове, клінічне дослідження фази 1/2. Інформацію про клінічне дослідження можна знайти в загальному доступі за адресою: web.clinicaltrials.gov, з ідентифікатором NCT03090659.

У цьому дослідженні пацієнтів з рефрактерною/рецидивуючою множинною мієломою лікували за допомогою LCAR-B38M CAR-T-клітин, отриманих з аутологічних Т-клітин пацієнтів. Загальну дозу 0,5 x 10^6-5 x 10^6 клітин/кг маси тіла вводили кожному пацієнту шляхом внутрішньовенної ін'єкції в трьох дробних дозах (20 %, 30 % і 50 % відповідно) протягом тижня (наприклад, в Дні 0, 2 і 6). Протягом Днів 1-30 дослідження пацієнтів контролювали на предмет виникнення небажаних явищ, і отримували зразки пацієнтів для лабораторної оцінки. Всі пацієнти спостерігалися протягом щонайменше 36 місяців після введення CAR-T.

Первинний результат дослідження оцінював виникнення небажаних явищ, пов'язаних із лікуванням, які аналізували згідно із Загальними термінологічними критеріями небажаних явищ (CTCAE) v4. О протягом 1-30 днів після ін'єкції LCAR-B38M CAR-T-клітин. Вторинний результат оцінював реакції відповіді на лікування мієломи, індуковані CAR-T, наприклад, шляхом визначення рівнів імуноглобуліну в сироватці, що відхиляються від норми, і числа клітин множинної мієломи в кістковому мозку пацієнтів до і після введення LCAR-B38M CAR-T-клітин. Цілі ефективності дослідження включали частку Повної відповіді за результатами лабораторного дослідження, 3-річну виживаність без ознак захворювання, 3-річну виживаність без прогресування.

Пацієнти у віці 18-75 років могли брати участь в дослідженні, якщо: (1) пацієнт має підтверджений раніше діагноз активної множинної мієломи, що визначено оновленими критеріями IMWG; (2) за допомогою проточної цитометрії або імуногістохімії виявляється чітка експресія BCMA на злоякісних плазменних клітинах з кісткового мозку або плазмоцитоми; і (3) пацієнт має рефрактерну множинну мієлому, що визначено отриманням щонайменше 3

попередніх курсів лікування, включаючи бортезоміб, або іншим методом ідентифіковану лікарями-клініцистами; або у пацієнта спостерігається рецидив множинної мієломи, що визначено настановами для клінічної практики в онкології NCCN: Множинна мієлома (2016 V2).

З дослідження виключалися такі пацієнти: (1) жінки, що могли народжувати дітей, або вагітні, або жінки, що годують грудьми; (2) пацієнти з активною і неконтрольованою інфекцією: гепатитом В, гепатитом С, ВІЛ або іншою смертельною вірусною і бактеріальною інфекцією; (3) пацієнти, які отримували системну терапію кортикостероїдами в дозі більше 5 мг/добу преднізону або еквівалентну дозу іншого кортикостероїду, не допускаються в межах 2 тижнів або до необхідного лейкаферезу, або до ініціювання адаптаційного режиму хіміотерапії; (4) пацієнти з будь-яким неконтрольованим інтеркурентним захворюванням або серйозним неконтрольованим патологічним станом; (5) пацієнти з метастазами в ЦНС або симптоматичними ураженнями ЦНС (включаючи черепні невропатії або масивні ураження і компресію спинного мозку); (6) пацієнти з аллогенною трансплантацією стовбурових клітин в анамнезі, які мають активну гостру або хронічну хворобу "трансплантат проти хазяїна" (ХТПХ) або потребують призначення імунодепресантів з приводу ХТПХ, в межах 6 місяців до участі в дослідженні; або (7) пацієнти з активними аутоімунними шкірними захворюваннями, як-от псоріаз або інші активні аутоімунні захворювання, як-от ревматоїдний артрит.

При проміжному аналізі в травні 2017 року, 35 пацієнтів з рецидивуючою або резистентною (рефрактерною) множинною мієломою отримували лікування із застосуванням LCAR-B38M CAR-T. Перші ознаки ефективності лікування з'явилися вже через 10 днів після першої ін'єкції CAR-T-клітин. В цілому, показник частоти об'єктивної відповіді склав 100 %, і 33 пацієнта з 35 (94 %) досягли очевидної клінічної ремісії мієломи (повна відповідь або дуже добра часткова відповідь) протягом двох місяців лікування із застосуванням CAR-T-клітин.

До моменту проведення аналізу, 19 пацієнтів спостерігалися протягом більше чотирьох місяців, що є попередньо встановленим періодом часу для повної оцінки ефективності за консенсусними критеріями Міжнародної групи з вивчення множинної мієломи (IMWG). Один пацієнт досягнув часткової відповіді, і чотири пацієнти досягли критеріїв дуже доброї часткової ремісії (VgPR) щодо ефективності. У жодного з пацієнтів, які досягли критеріїв суворої повної відповіді ("СПО"), не було рецидивів. П'ять пацієнтів, яких спостерігали більше року (12-14 місяців), залишалися в статусі СПО і не мали мінімального залишкового захворювання (тобто ракові клітини в кістковому мозку не виявлялися).

Синдром вивільнення цитокінів ("СВЦ") є поширеним і потенційно небезпечним побічним ефектом терапії CAR Т-клітинами. Тільки транзиторний СВЦ реєструвався у 85 % з 35 пацієнтів. Симптоми СВЦ включають лихоманку, низький кров'яний тиск, утруднене дихання і порушення функції багатьох органів. У більшості пацієнтів симптоми СВЦ були легкого ступеня тяжкості та контрольованими. Тільки у двох пацієнтів спостерігався серйозний СВЦ (клас 3), але він купірувався після прийому тоцилізумабу (запально-відновне лікування, яке зазвичай застосовується при розвитку СВЦ в клінічних дослідженнях терапії CAR-T-клітинами). У жодного з пацієнтів не спостерігалися неврологічні побічні ефекти, які є ще одним поширеним і серйозним ускладненням терапії CAR-T-клітинами.

Проміжні дані клінічних досліджень демонструють сильну ефективність і безпеку лікування із застосуванням LCAR-B38M CAR-T у пацієнтів з рефрактерною/рецидивуючою множинною мієломою.

У пілотному клінічному дослідженні 3 пацієнта отримували аутологічні Т-клітини, які експресують одновалентний BCMA CAR, тобто LCAR-B27S CAR-T-клітини. LCAR-B27S CAR (один моновалентний BCMA CAR, вказаний у Таблиці 4) має антигензв'язуючий домен, що містить одиночний фрагмент V_HH, який розпізнає одиночний епітоп молекули BCMA. Цей домен V_HH ідентичний другому домену V_HH двоепітопного/двовалентного LCAR-B38M CAR.

Для аналізу цитотоксичності in vitro LCAR-B27S CAR-T-клітини отримували від трьох пацієнтів з множинною мієломою відповідно, а LCAR-B38M CAR-T-клітини також отримували відповідно від тих же трьох пацієнтів з множинною мієломою в якості контролю. Обидва типи CAR-T-клітин спільно культивували з клітинами RPMI8226.Luc при співвідношенні ефекторних клітин і клітин-мішеней (співвідношення E/M) 20: 1 і 5: 1 протягом 20 годин. Як проілюстровано на Фіг. 14A, CAR-T-клітини отримували із застосуванням Т-клітин від пацієнта А. Відсоток залишкових життєздатних клітин, що оцінюється за залишковою активністю люциферази в клітинах RPMI8226.Luc, становив 3,97±0,75 % для LCAR-B38M і 3,17±0,57 % для LCAR-B27S, при цьому співвідношення E/M становило 20: 1. Однак, коли співвідношення E/M становило 5: 1, LCAR-B38M продемонстрував вищий потенціал знищення клітин RPMI8226.Luc в порівнянні з LCAR-B27S (33,37±0,75 % залишкових життєздатних клітин для LCAR-B38M, 68,60±1,60 % для LCAR-B27S). Як проілюстровано на Фіг. 14B, CAR-T-клітини отримували із застосуванням Т-

клітин від пацієнта B. Відсоток залишкових життєздатних клітин, що оцінюється за залишковою активністю люциферази в клітинах RPMI8226.Luc, становив 4,45±0,57 % для LCAR-B38M і 9,32±1,16 % для LCAR-B27S, при цьому співвідношення E/M становило 20: 1. Однак, коли співвідношення E/M становило 5: 1, LCAR-B38M і в цьому випадку продемонстрував вищий потенціал знищення клітин RPMI8226.Luc в порівнянні з LCAR-B27S (40,92±3,00 % залишкових життєздатних клітин для LCAR-B38M, 84,05±1,56 % для LCAR-B27S). Як проілюстровано на Фіг. 14C, CAR-T-клітини отримували із застосуванням T-клітин від пацієнта C. Відсоток залишкових життєздатних клітин, що оцінюється за залишковою активністю люциферази в клітинах RPMI8226.Luc, становив 2,56±0,88 % для LCAR-B38M і 10,12±1,83 % для LCAR-B27S, при цьому співвідношення E/M становило 20: 1. Однак, коли співвідношення E/M становило 5: 1, LCAR-B38M і в цьому випадку продемонстрував вищий потенціал знищення клітин RPMI8226.Luc в порівнянні з LCAR-B27S (29,99±3,13 % залишкових життєздатних клітин для LCAR-B38M, 100,93±9,25 % для LCAR-B27S).

У пілотному клінічному дослідженні, 3 пацієнта отримували LCAR-B27S CAR-T-клітини, при цьому всі протоколи попередньої адаптації, виконання ін'єкцій та спостереження були ідентичні протоколам клінічного дослідження з двовалентним LCAR-B38M CAR. Загальну дозу аутологічних LCAR-B27S модифікованих CAR-T-клітин, що становить 3 x 10^6 клітин/кг (пацієнт A), 5 x 10^6 клітин/кг (пацієнт B) і 7 x 10^6 клітин/кг (пацієнт C) маси тіла вводили кожному пацієнту, відповідно, шляхом внутрішньовенної ін'єкції в трьох дробних дозах (20 %, 30 % і 50 % відповідно) протягом тижня (наприклад, в Дні 0, 2 і 6). Протягом Днів 1-30 дослідження, пацієнтів контролювали на предмет виникнення небажаних явищ, і отримували зразки пацієнтів для лабораторної оцінки. Всі пацієнти спостерігалися протягом щонайменше 36 місяців після введення CAR-T.

2 пацієнта з трьох пацієнтів досягли критеріїв дуже доброї часткової відповіді (ддЧВ), але в обох пацієнтів спостерігався рецидив протягом 6 місяців після інфузії CAR-T. У третього пацієнта клінічної відповіді не було. Тому пілотне дослідження з LCAR-B27S було припинено EPO (IRB) без додаткового залучення пацієнтів.

Показники частоти об'єктивної відповіді, частоти повної ремісії і частоти рецидивів в цьому пілотному дослідженні одновалентного BCMA CAR (LCAR-B27S) і в дослідженні двовалентного BCMA CAR (LCAR-B38M CAR-T) наведені в Таблиці 11 нижче. Двовалентний BCMA CAR-T перевершував за клінічною ефективністю одновалентний BCMA CAR-T.

Таблиця 11

Зіставлювані клінічні дані терапії одновалентним і двовалентним/двоепітопним BCMA CAR-T

Агент	N	Доза (клітин/кг)	Клінічне дослідження	Частота об'єктивної відповіді (ЧОВ)	Частота повної ремісії (ЧПР)	Частота рецидиву (> 6 міс.)
Одновалентний BCMA CAR-T (LCAR-B27S)	3	3, 5, 7 × 10^6 відповідно	Пілотие дослідження	67 %	0 %	67 %
Двовалентний/ двоепітопний BCMA CAR-T (LCAR-B38M)	35	0,3 × 10^6-5. 6 × 10^6 (медіана = 2,9 × 10^6)	NCT03 090659	100 %	57,1 %	7,5 %

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> NANJING LEGEND BIOTECH CO., Ltd

<120> ХИМЕРНІ АНТИГЕННІ РЕЦЕПТОРИ, НАЦІЛЕНІ НА BCMA, ТА СПОСОБИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

<130> 761422000640

<160> 399

<170>FastSEQ для Windows версії 4.0

<210> 1
<211> 6

<212>PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 1

AspTyrTyrAlaIleGly
1 5

<210> 2
<211> 5
<212>PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 2

ThrTyrGlyMetAla
1 5

<210> 3
<211> 5
<212>PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 3

ThrPheThrMetGly
1 5

<210> 4
<211> 5
<212>PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 4

IleAsnAlaMetGly
1 5

<210> 5
<211> 5
<212>PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 5

Ser Ile Val Met Gly
1 5

<210> 6
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 6

Arg Ala Val Ile Val
1 5

<210> 7
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 7

Ser Asp Val Met Gly
1 5

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 8

Asn Asp His Met Ala
1 5

<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 9

Lys Asn Thr Val Ala
1 5

<210> 10
<211> 5
<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 10

Ser His Val Met Gly
1 5

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 11

Thr Tyr Phe Met Ala
1 5

<210> 12
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 12

Ile Asn Val Met Ala
1 5

<210> 13
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 13

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 14
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 14

Ile Asn Ala Met Gly
1 5

<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 15

Lys Asn Thr Val Ala
1 5

<210> 16
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 16

Ser Ile Val Met Gly
1 5

<210> 17
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 17

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 18
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 18

Lys Asn Thr Val Ala
1 5

<210> 19
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 19

Ile Asn Thr Met Asp
1 5

<210> 20
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 20

Lys Asn Thr Val Ala
1 5

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 21

Asp Tyr Trp Met His
1 5

<210> 22
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 22

Ser Asn Thr Met Ala
1 5

<210> 23
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 23

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 24
<211> 6
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 24

Val Ala Ala Ile Ser Leu
1 5

<210> 25
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 25

Lys Asn Thr Val Ala
1 5

<210> 26
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 26

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 27
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 27

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 28
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 28

Ser Ile Val Met Gly
1 5

<210> 29
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 29

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 30
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 30

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 31

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 32
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 32

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 33
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 33

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 34
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 34

Asn His Val Met Gly
1 5

<210> 35
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 35

Asn Tyr Ile Leu Ala
1 5

<210> 36
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 36

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 37
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 37

Thr Phe Thr Met Gly
1 5

<210> 38
<211> 6
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 38

Asn Asn Phe Val Met Gly
1 5

<210> 39
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 39

Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 40
<211> 19
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 40

Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15
Val Lys Gly

<210> 41
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 41

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

<210> 42
<211> 16
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 42

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

<210> 43
<211>17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 43

Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 44
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 44

Phe Ile Lys Pro Ser Asp Gly Thr Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Leu Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 45
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 45

Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 46
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 46

Ala Ile Asp Trp Ser Gly Arg Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val Glu
1 5 10 15
Gly

<210> 47
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 47

Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 48
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 48

Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 49
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 49

Gly Ile Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 50

<211> 16
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 50

Ala Val Thr Arg Asp Gly Arg Lys Ser Cys Gly Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 51
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 51

Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Ser Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 52
<211> 16
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 52

Thr Ile Thr Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Gly Pro Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 53
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 53

Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asn Ser Val Asn
1 5 10 15
Gly

<210> 54
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція
<400> 54

Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Leu Thr Tyr Leu Gln Gly Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 55
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 55

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

<210> 56
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 56

Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 57
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 57

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

<210> 58
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 58

Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asn Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 59
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 59

Ser Ile Asp Thr Ser Gly Gln Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Leu Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 60
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 60

Ser Thr Thr Trp Asn Gly Arg Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 61
<211> 15
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 61

Asp Ile Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 62
<211> 21
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 62

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met
1 5 10 15
Asn Ser Leu Lys Pro
20

<210> 63
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 63
Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 64
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 64

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

<210> 65
<211> 19
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 65

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

<210> 66
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 66

Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 67
<211> 17

<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 67

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

<210> 68
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 68

Ser Ile Thr Leu Ile Pro Thr Phe Pro Tyr Tyr Ala Tyr Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 69
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 69

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

<210> 70
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 70

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

<210> 71
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 71

Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Asn Ala Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 72
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 72

Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 73
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 73

His Ile Ser Arg Ser Gly Gly Lys Ser Gly Tyr Gly Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 74
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 74

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

<210> 75
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 75

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

<210> 76
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 76

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

<210> 77
<211> 14
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 77

Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe
1 5 10

<210> 78
<211> 18
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 78

Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile
1 5 10 15
Asp Tyr

<210> 79
<211> 13
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 79

Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 80
<211> 13
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 80

Val Tyr Val Thr Leu Leu Gly Gly Val Asn Arg Asp Tyr
1 5 10

<210> 81
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 81

Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr
1 5 10

<210> 82
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 82

Ala Ser Pro Glu Asp Trp Tyr Thr Asp Trp Ile Asp Trp Ser Ile Tyr
1 5 10 15
Arg

<210> 83
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 83

Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr
1 5 10

<210> 84
<211> 12

<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 84

Val Leu Arg Ala Trp Ile Ser Tyr Asp Asn Asp Tyr
1 5 10

<210> 85
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 85

Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr
1 5 10

<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 86

Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 87
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 87

Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala
1 5 10

<210> 88
<211> 16
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 88

Asp Gly Trp Gly Ala Thr Thr Leu Asp Tyr Thr Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 89
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 89

Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 90
<211> 14
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 90

Glu Arg Leu Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Tyr Glu Tyr Asp Tyr
1 5 10

<210> 91
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 91

Tyr Arg Lys Ser Ile Met Ser Ile Gln Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 92
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 92

Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 93
<211> 10
<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 93

Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 94
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 94

Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr
1 5 10

<210> 95
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 95

Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 96
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 96

Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Ser Ala Asp Tyr
1 5 10

<210> 97
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 97

Arg Tyr Arg Gly Gly Thr Trp Tyr Gly Met Ala Asn
1 5 10

<210> 98
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 98

Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr
1 5 10

<210> 99
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 99

Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 100
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 100

Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 101
<211> 16
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 101

Thr Ala Ser Cys His Leu Phe Gly Leu Gly Ser Gly Ala Phe Val Ser
1 5 10 15

<210> 102
<211> 10
<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 102

Ser Lys Asp Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr
1 5 10

<210> 103
<211> 8
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 103

Lys Asn Gly Gly Pro Val Asp Tyr
1 5

<210> 104
<211> 10
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 104

Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr
1 5 10

<210> 105
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 105

Glu Arg Lys Ser Val Met Ala Ile Pro Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 106
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 106

Tyr Arg Lys Tyr Leu Met Ser Ile Leu Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 107
<211> 18
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 107

Asn Arg Asn Ser Gln Arg Val Ile Ala Ala Leu Ser Trp Ile Gly Met
1 5 10 15
Asn Tyr

<210> 108
<211> 10
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 108

Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 109
<211> 10
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 109

Arg Arg Ile Asp Ala Thr Asp Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 110
<211> 10
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 110

Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser
1 5 10

<210> 111
<211> 12
<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 111

Pro Leu Trp Tyr Gly Ser Pro Thr Leu Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 112
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 112

Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 113
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 113

Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 114
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 114

Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 115
<211> 122
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 115

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

<210> 116
<211> 128
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 116

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

<210> 117
<211> 118
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 117

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

<210> 118
<211> 120
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 118

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

<210> 119
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 119

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

<210> 120
<211> 128
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 120

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

<210> 121
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 121

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

<210> 122
<211> 120
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 122

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

<210> 123
<211> 120
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 123

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

<210> 124
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 124

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

<210> 125
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 125

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

<210> 126
<211> 124
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 126

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

<210> 127
<211> 118
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 127

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

<210> 128
<211> 122
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 128

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

<210> 129
<211> 121
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 129

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

<210> 130
<211> 121
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 130

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

<210> 131
<211> 116
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 131

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

<210> 132
<211> 120
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 132

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

<210> 133
<211> 121
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 133

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

<210> 134
<211> 120
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 134

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

<210> 135
<211> 121
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 135

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

<210> 136
<211> 120
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 136

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

<210> 137
<211> 116
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 137

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

<210> 138
<211> 104
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 138

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

<210> 139
<211> 125
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 139

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

<210> 140
<211> 116
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 140

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

<210> 141
<211> 114
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 141

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

<210> 142
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 142

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

<210> 143
<211> 118
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 143

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

<210> 144
<211> 118
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 144

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

<210> 145
<211> 124
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 145

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

<210> 146
<211> 116
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 146

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

<210> 147
<211> 116
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 147

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

<210> 148
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 148

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

<210> 149
<211> 123
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 149

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

<210> 150
<211> 118
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 150

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

<210> 151
<211> 118
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 151

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

<210> 152
<211> 121
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 152

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

<210> 153
<211> 366
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 153

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggggttc tctgaggctc 60
tcctgtgaag cctctggatt cactttggat tattatgcca taggctggtt ccgccaggcc 120
ccagggaagg agcgcgaggg ggtcatatgt attagtagaa gtgatggtag cacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa aacggtgtat 240
ctgcaaatga tcagcctgaa acctgaggac acggccgctt attactgtgc agcaggggcc 300
gattgttcgg ggtacctacg agattatgag ttccgggggc aggggaccca ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 154
<211> 384
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 154

caggtaaagc tggaggagtc tggggacga ttggtgcagc caaggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag gctctggacg cactttcagt acctatggta tggcctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt cgtagcgtct aaagcatcga tgaattacag cggtagaaca 180
tactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatcgcca gagacaacgc caagaacatg 240
gtgtttctgc aaatgaacaa cctgaagcct gaggacacgg ccgtttatta ctgtgcagcg 300
ggcactggat gctcaacata tgggtgtttt gacgcccaga taatagacta ctggggcaaa 360
gggaccctgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 155
<211> 354
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 155

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagg ctggggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atggggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ttgtagcagc tattagtttg agtcctactt tagcatatta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcaccat cagccgagac aacgccaaga acacggtggt tttgcaaatg 240
aacagcctga aacctgagga cacggccctt tattactgtg cagcagaccg gaaatcagta 300
atgtctattc ggccccgacta ctggggccag gggacccagg tcaccgtctc ctca 354

<210> 156
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 156

gccgtgcagc tggtggattc tggggaggc ttggtgcagc ctgggggtc tctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggagg tatcttcgtc atcaatgcca tgggctggta ccgccaggct 120
ccaggaaagc agcgccgagtt ggtcgcatct attcgtggac taggcagaac aaactatgac 180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaacg ccaacaacac ggtgtatctg 240
cagatgaaca gcctggaacc tgaggacacg gccgtctact actgtacagt ctacgttaca 300
ctacttggtg gggttaatag ggactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 157
<211> 357
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 157

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg gaccttcagt agcattgtca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtaggagcg attatgtgga atgatggtat tacatacttg 180
caagactccg tgaagggccg atttaccatc ttcagagaca atgccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acttgaggat acggccgttt attactgtgc agcatccaag 300
ggtagatact cggaatatga gtactggggc caggggaccc aggtcaccgt ctcctca 357

<210> 158
<211> 384
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 158

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtgcagg ctgggggctc tctgacagtc 60
tcctgtacag cctctggatt cactttcgac cgtgctgtca tagtctggtt ccgccaggcc 120
cccgggaagg gcccgtgaggg ggtctcattt attaaaccta gtgatggcac catatactac 180
attgactccc tgaagggccg attcacgatc tccagtgaca tcgccaagaa tacggtatat 240
ctgcaaatga aaagtctgga atcggaggac tcggccgttt attactgtgc ggcctcgcct 300
gaggactggt acacggattg gatcgactgg agtatatatc ggtggcagca ctggggccag 360
gggacccagg tcactgtctc ctca 384

<210> 159
<211> 357
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 159

gaggtgcagc tggtggagtc tggggagga atggtgcagg ctggggactc tctgagacta 60
tcctgtgtgc agtctacttta caccgtcaat agcgatgtca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtaggagcg attatgtgga atgatggtat tacatacttg 180
caagactccg tgaagggccg atttaccatc ttcagagaca acgccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acttgaggat acggccgttt attactgtgc agcatccaag 300
ggtagatact cggaatatga gtactggggc cagggaccc aggtcaccgt ctcctca 357

<210> 160
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 160

gcggtgcagc tggtggagtc tggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 60
tcctgtacag cctctggtgc aaccttgact aacgatcaca tggcatggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggcgtgaatt tgtagcagct attgactgga gtggtcgtac cacaaattac 180
gcagacccag tagagggccg attcaccatc tccagaaaca acgccaagaa cacggtgtat 240
ctggaaatga acagcctgaa acttgaggac acggccgttt attactgtgc ggtcctccgc 300
gcttggatct catatgacaa tgactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 161
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 161

caggtgcagc tggtggagtc tggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggagg caccttaagt aaaaataccg tggcttggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgggtt tgtagcgtct attacctggg atggtcgtac gacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacagtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggat acggccgttt atgtctgtgc agacttaggg 300
aaatggcctg cgggccccgc ggactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 162
<211> 357
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 162

caggtaaagc tggaggagtc tggggaggc ttggtgcagg ctgggcggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctgaaca caccttcagt agccatgtca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtc tgttgcagtt attggctgga gagatattag cacaagctat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa gacgctgtat 240
ctgcaaatga atagcctgaa acctgaggac acggccgttt actactgtgc agcacgtcgg 300
atcgacgcag ctgactttga ttcctggggg caggggaccc aggtcaccgt ctcctcg 357

<210> 163
<211> 357
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 163

```
gcggtgcagc tggtggagtc tggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 60
acctgtacag cctctggacg cgccttcagt acctatttca tggcctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtagcagga attgcatgga gtggtggtag cacggcgtat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa atctgaggac acggccgttt attactgtgc cagcaggggg 300
attgaggtcg aagagtttgg tgcctggggc caggggaccc aggtcaccgt ctcgtcg    357
```

<210> 164
<211> 372
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 164

```
gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtgccgc ctggggggtc tctgagactc 60
tcctgtacag cctctggaag cacagtcagc atcaatgtca tggcctggta ccgccaggtt 120
tcagggaagc agcgcgagtt ggtcgcggcc gttactaggg atggtaggaa aagttgtgga 180
gactccgtga agggccgatt caccatttcc agagacggcg ccaagaatgc ggtatatttg 240
caaatgaaca gtctgaaacc tgaggacaca gcggtctatt tatgtggagc cgatggttgg 300
ggtgctacta ccttagatta tacctacggc atggactatt ggggcaaagg gacccaggtc 360
accgtctcct ca                                                    372
```

<210> 165
<211> 354
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 165

```
gcggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atggggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gagcgtgggt ttgtagcgtc tattacctgg gatggtcgtt cggcatacta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcaccat cagccgagac aacgccaaga acacggtggt tttgcaaatg 240
aacagcctga aacctgagga cacggccctt tattactgtg cagcagaccg gaaatcagta 300
atgtctattc ggcccgacta ctggggccag gggacccagg tcaccgtctc ctca       354
```

<210> 166
<211> 366
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 166

caggtacagc tggtggagtc tggggagga ttggtgcagc ctgggggctc tctaagactc 60
gcatgtgaag cgcctggaag cggcaatagt atcaatgcca tgggctggta ccggcagact 120
ccggggaagc ggcgcgagtt ggtcgcaact attactcggg gtggtagcac gaactatgga 180
ccctccgtga agggccgatt cacgatcacc agagacaatg tcaagaatac ggtgcatctg 240
cagatgaaca gcctgaaacc tgacgacacg gccgtctatt attgcaatgc ggagaggctg 300
gacggctcgg ggtacggata tgagtatgat tactggggcc aggggaccca ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 167
<211> 363
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 167

caggtaaagc tggaggagtc tggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggagg caccttaagt aagaataccg tggcttgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgggtt tgtaacgtct attacctgtg atggtcgtac gacatactat 180
gcgaactccg taaacggccg attccccatc aaccgaaaca acgccgagaa tttggtggtt 240
ttgcaaatga acagcctgaa acctgacgac acggcccttt attactgtgc agcataccgg 300
aagtcaataa tgtctattca gcccgactac tggggccagg ggacccaggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 168
<211> 363
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 168

gatgtgcagc tggtggagtc tggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg gaccttcagt agcattgtca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtaggagcg attatgtgga atgatggtct gacatacttg 180
caagggtccg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca acgccaagaa cacggtggtt 240
ttgcaaatga acagcctgaa acctgaggac acggcccttt attactgtgc agcagaccgg 300
aaatcagtaa tgtctattcg gcccgactac tggggccagg ggacccaggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 169
<211> 348
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 169

caggtacagc tggtggagtc tggggagga ttggtgcagg ctggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atgggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ttgtagcagc tattagtttg agtcctactt tagcatatta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcaccat cagccgagac aacgccaaga acacggtggt tttgcaaatg 240
aacagcctga aacctgagga cacggccgtt tactactgtg cagcacgtcg gatcgacgca 300
gctgactttg attcctgggg gcagggacc caggtcaccg tctcctca 348

<210> 170
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 170

caggtacagc tggtggagtc tggggagga ttggtgcagg ctggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggagg caccttaagt aaaaataccg tggcttggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgggtt tgtagcgtct attacctggg atggtcgtac gacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacagtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggat acggccgttt atgtctgtgc agacttaggg 300
aaatggcctg cgggccccggc ggactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 171
<211> 363
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 171

caggtgcagc tggtggagtc tggggaggc ttggtgcagc ctgggggtc tctgacactc 60
tcctgtgcag cctctggaag catcgacagt atcaatacca tggactggtt ccgtcaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtagcagct attagtttga gtcccacttt agcatattat 180
gcagagtccg tgaagggccg attcaccatc agccgagaca acgccaagaa cacggtggtt 240
ttgcaaatga acagcctgaa acctgaggac acggcccttt attactgtgc agcagaccgg 300
aaatcagtaa tgtctattcg gcccgactac tggggccagg ggacccaggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 172
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 172

gatgtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggagg caccttaagt aagaataccg tggcttgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgggtt tgtaacgtct attacctgtg atggtcgtac gacatactat 180
gcgaactccg tgaagggccg attccccatc tccagagaca acgccgagaa cacagtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggat acggccggtt atgtctgtgc agacttaggg 300
aagtggcctg cgggttcggc ggactactgg ggccagggga cccacgtcac cgtctcctcc 360

<210> 173
<211> 363
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 173

caggtaaagc tggaggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctggggggtc tctgagactc 60
tcctgtacag cctcggaatt cacattcagt gactactgga tgcattgggt ccgtcaggct 120
ccgggggaagg ggctcgagtg ggtcgcatct atagatacta gtggacagac cacatactat 180
gcagactccc tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagag cacgttgtat 240
ctgcaaatga acagtctgaa atctgaagac acgggcgtgt atttctgtgc aaaacgatat 300
aggggtggta cctggtatgg catggccaac tggggcaaag ggacccaggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 174
<211> 360
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 174

caggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttaagt agtaatacca tggcttggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtagcgtct actacctgga atggtcgtag cacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacgatgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggat acggccgttt atgtctgtgc agacttaggg 300
aaatggcctg cgggcccggc ggactactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 360

<210> 175
<211> 348
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 175

caggtgcagc tggtggagtc tggggagga ttggtgcagg ctggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atgggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
cagcgcgaat tggtcgcaga tattagtggt ggtcgcacaa actatgcaga ttccgtgaag 180
ggacgattca ccatctccag agacaacgcc aagaacacgg tatatctgca aatgaacagc 240
ctgaaacctg aggacacggc cgtttattac tgtgcagcag accggaaatc agtaatgtct 300
attcggcccg actactgggg ccaggggacc caggtcaccg tctcctca 348

<210> 176
<211> 312
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 176

caggtgcagc tggtggagtc tggggaggc ttggtgcagg ctggggcctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc gtggcagcta ttagtttgag tactacttta 120
gcatattatg cagagtccgt gaagggccga ttcaccatca gccgagacaa cgccaagaac 180
acggtggttt tgcaaatgaa cagcctgaaa cctgaggaca cggccgttta ttactgtgca 240
gcagaccgga aatcagtaat gtctattcgg cccgactact ggggccaggg gacccaggtc 300
accgtctcct ca 312

<210> 177
<211> 375
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 177

gatgtgcagc tggtggagtc tggggagga ttggagcagg ctggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggagg caccttaagt aaaaataccg tggcttggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgggtt tgtagcgtct attacctggg atggtcgtac gacatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacagtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acctgaggat acggccgttt attactgtgc gtcgacggca 300
tcgtgccacc tcttcggatt ggggtccggg gcctttgtgt cctggggccg ggggacccag 360
gtcaccgtct cctca 375

<210> 178
<211> 348
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 178

gcggtgcagc tggtggagtc tggggagga ttggtgcagg ctggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atggggtggt tccatcaggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ttgtagcagc tattagtttg agtcctactt tagcatatta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcaccat cagccgagac aacgccaaga acacggtggt tttgcaaatg 240
aacagcctga aacctgagga cacggccctt tattactgtg cagcatccaa ggatagatat 300
tcggaatatg agtactgggg ccaggggacc caggtcaccg tctcctca 348

<210> 179
<211> 342
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 179

caggtaaagc tggaggagtc tggggagga ttggtgcagg ctggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atggggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ttgtagcagc tattagtttg agtcctactt tagcatatta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcaccat cagccgagac aacgccaaga acacggtggt tttgcaaatg 240
aacagcctga aacctgagga cacggccctt tattactgtg caaaaaaaaa cgggggcct 300
gtggactact ggggcaaagg gacccaggtc accgtctcct ca 342

<210> 180
<211> 357
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 180

gatgtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg gaccttcagt agcattgtca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtaggagcg attatgtgga atgatggtat tacatacttg 180
caagactccg tgaagggccg atttaccatc ttcagagaca acgccaagaa cacggtgtat 240
ctgcaaatga acagcctgaa acttgaggat acggccgttt attactgtgc agcatccaag 300
ggtagatact cggaatatga gtactggggc caggggaccc aggtcaccgt ctcctca 357

<210> 181
<211> 354
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 181

caggtaaagc tggaggaatc tgggggaaga ttggtgcagg ctggggctc tctgaaactc 60
tcctgggcag cctctggacg caccttcacc atggggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gaacgtgagt ttgtaacagc tattaatttg agtcctactt taacatatta tgcagaatcc 180
gtgaagggcc gattccccat cagccgaaac aacgcccaga acacggtggt tttgcaaatg 240
aacagcctga aacctgagga cacggccctt tattactgtg cagcagaacg gaaatcagta 300
atggctattc cgcccgacta ctggggccag gggacccagg tcaccgtctc ctca 354

<210> 182
<211> 354
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 182

```
gaggtgcagc tggtggagtc tggggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atgggggggt tccgtcgggt tcctcgggat 120
gagcgggagt ttgtagcatc tattactttg attcctactt ttccttatta tgcatattcc 180
gtgaagggcc gattcgccct cttccgagac aaccccaaca acaccgtgat tttgctgatg 240
atcagcctga aacctgagga cccggacctt tattactgtg cttcataccg gaaataccta 300
atgtctattc tgccccgacta ctgggggccag gggacccagg gcaccgtctc ctcc       354
```

<210> 183
<211> 372
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 183

```
caggtaaagc tggaggagtc tggggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atgggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ttgtagcagc tattagtttg agtcctactt tagcatatta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcaccat cagccgagac aacgccaaga acacggtgga tctgcaaatg 240
aacagcctga aacctgagga cacggccgtc tatttctgtg cagcaaatcg gaactcccaa 300
cgggtaattg cggcactgtc ctggattggc atgaactact ggggcgaatg gacccaggtc 360
accgtctcct cc                                                    372
```

<210> 184
<211> 348
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 184

```
caggtgcagc tggtggagtc tggggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atgggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ttgtagcagc tattagtttg agtcctactt tagcatatta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcaccat ctccagagac aacgccaaga agacgctgta tctgcgaatg 240
aatagcctga aacctgagga cacggccgtt tactactgtg cagcacgtcg gatcgacgca 300
gctgactttg attcctgggg gcaggggacc caggtcaccg tctcctca              348
```

<210> 185
<211> 348
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 185

caggtaaagc tggaggagtc tggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atgggtggt tccgtcgggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ctgttgcagt tattggctgg agagatatta acgcaagcta tgcagactcc 180
gtgaagggcc gattcgccat ctccagagac aacgccaaga agacgctgta tctgcagatg 240
aatagcctga aacctgagga cacggccgtt tactactgtg cagcacgtcg gatcgacgca 300
actgactttg attcctgggg gcaggggacc caggtcaccg tctcctca 348

<210> 186
<211> 357
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 186

caggtaaagc tggaggagtc tggggagga ttggtgcaga ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctgaaca caccttcagt aaccatgtca tgggctggtt ccgccaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtc tgttgcagtt attggctgga gagatattag cacaagctat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa gacgctgtat 240
ctgcaaatga atagcctgaa acctgaggac acggccgttt actactgtgc agcacgtcgg 300
atcgacgcag ctgactttga ttcccggggg cagggaccc aggtcaccgt ctcctca 357

<210> 187
<211> 369
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 187

gccgtgcagc tggtggattc tggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagaatt 60
tcctgtgcag tctctggacg cacctccagt aactatatat tggcctggtt ccgtcaggct 120
ccaggaaaag agcgtgactt tgtagcacat attagccgga gtggtggtaa gtccggctat 180
ggagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccgagaa cacggtcagg 240
gtgtatctgc aaatgaacag tctgaaacct ggggacacgg ccgtctatta ctgtaatcgc 300
ccccctctggt acggaagtcc cacgttgatt gactactggg gccaggggac ccaggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 188
<211> 354
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 188

```
gcggtgcagc tggtggagtc tggggaggc ttggtgcagc ctgggggtc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atgggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ttgtagcagc tattagtttg agtcctactt tagcatatta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcaccat cagccgagac aacgccaaga acacggtggt tttgcaaatg 240
aacagcctga aacctgagga cacggccctt tattactgtg cagcagaccg gaaatcagta 300
atgtctattc ggcccgacta ctggggccag gggacccagg tcaccgtctc ctca       354
```

<210> 189
<211> 354
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 189

```
gcggtgcagc tggtggagtc tggggagga ttggtgcagg ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggacg caccttcacc atggggtggt tccgtcaggc tccagggaag 120
gagcgtgagt ttgtagcagc tattagtttg agtcctactt tagcatatta tgcagagtcc 180
gtgaagggcc gattcaccat cagccgagac aacgccaaga acacggtggt tttgcaaatg 240
aacagcctga aacctgagga cacggccctt tattactgtg cagcagaccg gaaatcagta 300
atgtctattc ggcccgacta ctggggccag gggacccagg tcaccgtctc ctca       354
```

<210> 190
<211> 363
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 190

```
gatgtgcagc tggtggagtc tggggagga tcggtgcaga ctgggggctc tctgagactc 60
tcctgtacag cctctggacg caccctcaat aactttgtca tgggctggtt ccgtcaggct 120
ccagggaagg agcgtgagtt tgtagcagct attagtttga gtcctacttt agcatattat 180
gtagagtccg tgaagggccg attcaccatc agccgagaca acgccaagaa cacggtggtt 240
ttgcaaatga acagcctgaa acctgaggac acggcccttt attactgtgc agcagaccgg 300
aaatcagtaa tgtctattcg gcccgactac tggggccagg ggacccaggt caccgtctcc 360
tca                                                              363
```

<210> 191
<211> 21
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 191

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro
            20
```

<210> 192

<211> 45
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 192

```
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
 1               5                  10                  15
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
            20                  25                  30
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
        35                  40                  45
```

<210> 193
<211> 24
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 193

```
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
            20
```

<210> 194
<211> 27
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 194

```
Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
 1               5                  10                  15
Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
            20                  25
```

<210> 195
<211> 41
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 195

```
Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
 1               5                  10                  15
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
            20                  25                  30
Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
        35                  40
```

<210> 196
<211> 42
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 196

```
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
 1               5                  10                  15
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
            20                  25                  30
Pro Glu Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
        35                  40
```

<210> 197
<211> 113
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 197

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

<210> 198
<211> 113
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 198

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

<210> 199
<211> 63
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 199

```
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccg                                                               63
```

<210> 200
<211> 63
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 200

```
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg ccgctggctc tgctgctgca cgccgcaaga 60
ccc                                                               63
```

<210> 201
<211> 135
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 201

```
accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60
tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg 120
gacttcgcct gtgat                                                  135
```

<210> 202

<211> 72
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 202

atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 60
accctttact gc 72

<210> 203
<211> 81
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 203

ttttgggtgc tggtggtggt tggtggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60
gcctttatta ttttctgggt g 81

<210> 204
<211> 123
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 204

aggagtaaga ggagcaggct cctgcacagt gactacatga acatgactcc ccgccgcccc 60
gggcccaccc gcaagcatta ccagccctat gccccaccac gcgacttcgc agcctatcgc 120
tcc 123

<210> 205
<211> 126
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 205

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120
gaactg 126

<210> 206
<211> 336
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 206

```
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc                           336
```

<210> 207
<211> 336
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 207

```
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc                           336
```

<210> 208
<211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 208

```
Gly Gly Gly Gly Ser
 1               5
```

<210> 209
<211> 10
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 209

```
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1               5                  10
```

<210> 210
<211> 16
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 210

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 211
<211> 24
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 211

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15
Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20

<210> 212
<211> 34
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 212

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15
Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
20 25 30
Gly Ser

<210> 213
<211> 15
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 213

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 214
<211> 20
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 214

```
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1               5                  10                  15
Gly Gly Gly Ser
            20
```

<210> 215
<211> 25
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 215

```
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1               5                  10                  15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            20                  25
```

<210> 216
<211> 420
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 216

```
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile
65                  70                  75                  80
Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
                85                  90                  95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met
            100                 105                 110
Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
        115                 120                 125
Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly
```

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln
            20                  25                  30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly
    50                  55                  60
```

```
    130                 135                 140
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
145                 150                 155                 160
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
                165                 170                 175
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
            180                 185                 190
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val
        195                 200                 205
Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp
    210                 215                 220
Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met
225                 230                 235                 240
Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala
                245                 250                 255
Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys
            260                 265                 270
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
        275                 280                 285
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
    290                 295                 300
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
305                 310                 315                 320
Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
                325                 330                 335
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
            340                 345                 350
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
        355                 360                 365
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
    370                 375                 380
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
385                 390                 395                 400
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
                405                 410                 415
Leu Pro Pro Arg
            420
```

<210> 217
<211> 426
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 217

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Lys
20 25 30
Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg
35 40 45
Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala
50 55 60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys
65 70 75 80
Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
85 90 95
Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu
100 105 110
Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
115 120 125
Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile
130 135 140
Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
145 150 155 160
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
165 170 175
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
180 185 190
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu
195 200 205
Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val
210 215 220
Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His
225 230 235 240
Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys
245 250 255
His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
260 265 270
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
275 280 285
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
290 295 300
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
305 310 315 320
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
325 330 335
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
340 345 350
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
355 360 365
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
370 375 380
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
385 390 395 400
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
405 410 415
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
420 425

<210> 218
<211> 416

<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 218

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
            20                  25                  30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg
    50                  55                  60
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser
65                  70                  75                  80
Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
                85                  90                  95
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu
            100                 105                 110
Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser
        115                 120                 125
Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
    130                 135                 140
Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
145                 150                 155                 160
Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
                165                 170                 175
Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
            180                 185                 190
Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr
        195                 200                 205
Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys
    210                 215                 220
Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg
225                 230                 235                 240
Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp
                245                 250                 255
Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
            260                 265                 270
Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
        275                 280                 285
Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
    290                 295                 300
```

```
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
305                 310                 315                 320
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
            325                 330                 335
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
        340                 345                 350
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
    355                 360                 365
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
370                 375                 380
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
385                 390                 395                 400
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                405                 410                 415
```

<210> 219
<211> 418
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 219

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Ala Val Gln
            20                  25                  30
Leu Val Asp Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Gly Ile Phe Val Ile Asn Ala Met Gly
    50                  55                  60
Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ser Ile
65                  70                  75                  80
Arg Gly Leu Gly Arg Thr Asn Tyr Asp Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
                85                  90                  95
Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
            100                 105                 110
Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg
        115                 120                 125
Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
    130                 135                 140
Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
145                 150                 155                 160
Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
                165                 170                 175
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
            180                 185                 190
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
        195                 200                 205
```

```
                100                 105                 110
Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Val Tyr Val
            115                 120                 125
Thr Leu Leu Gly Gly Val Asn Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
        130                 135                 140
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
145                 150                 155                 160
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
                165                 170                 175
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
            180                 185                 190
Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala
        195                 200                 205
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
                325                 330                 335
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
            340                 345                 350
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
        355                 360                 365
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
    370                 375                 380
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
385                 390                 395                 400
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
                405                 410                 415
Pro Arg
```

<210> 220
<211> 417
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 220

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

```
Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
                100                 105                 110
Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser
            115                 120                 125
Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
        130                 135                 140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145                 150                 155                 160
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
                165                 170                 175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
            180                 185                 190
Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
        195                 200                 205
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
    210                 215                 220
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
225                 230                 235                 240
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
                245                 250                 255
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
            260                 265                 270
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
        275                 280                 285
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
    290                 295                 300
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
305                 310                 315                 320
Arg
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
            325                 330                 335
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
        340                 345                 350
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
    355                 360                 365
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
370                 375                 380
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
385                 390                 395                 400
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
                405                 410                 415
```

<210> 221
<211> 426
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 221

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
20 25 30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Thr
35 40 45
Val Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Arg Ala Val Ile Val
50 55 60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Gly Val Ser Phe Ile
65 70 75 80
Lys Pro Ser Asp Gly Thr Ile Tyr Tyr Ile Asp Ser Leu Lys Gly Arg
85 90 95
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu
195 200 205
Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val
210 215 220
Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His
225 230 235 240
Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys
245 250 255
His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
260 265 270
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
275 280 285
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
290 295 300
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
305 310 315 320
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
325 330 335
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
340 345 350
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
355 360 365
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
370 375 380
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
385 390 395 400
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
405 410 415
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
420 425

85 90 95
Phe Thr Ile Ser Ser Asp Ile Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
100 105 110
Lys Ser Leu Glu Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser
115 120 125
Pro Glu Asp Trp Tyr Thr Asp Trp Ile Asp Trp Ser Ile Tyr Arg Trp
130 135 140
Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
145 150 155 160
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
165 170 175
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
180 185 190

5

<210> 222
<211> 417

<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 222

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
            20                  25                  30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Val Gln Ser Thr Tyr Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly
    50                  55                  60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile
65                  70                  75                  80
Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg
                85                  90                  95
Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
            100                 105                 110
Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser
        115                 120                 125
Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
    130                 135                 140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145                 150                 155                 160
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
                165                 170                 175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
            180                 185                 190
Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
        195                 200                 205
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
    210                 215                 220
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
225                 230                 235                 240
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
                245                 250                 255
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
            260                 265                 270
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
        275                 280                 285
```

```
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
     290                 295                 300
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
305                 310                 315                 320
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
                325                 330                 335
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
            340                 345                 350
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
        355                 360                 365
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
    370                 375                 380
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
385                 390                 395                 400
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
                405                 410                 415
Arg
```

<210> 223
<211> 418
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 223

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Ala Val Gln
            20                  25                  30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ala Thr Leu Thr Asn Asp His Met Ala
    50                  55                  60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile
65                  70                  75                  80
Asp Trp Ser Gly Arg Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Pro Val Glu Gly Arg
                85                  90                  95
Phe Thr Ile Ser Arg Asn Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Glu Met
            100                 105                 110
Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Val Leu
        115                 120                 125
Arg Ala Trp Ile Ser Tyr Asp Asn Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
    130                 135                 140
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
145                 150                 155                 160
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
                165                 170                 175
```

```
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
            180                 185                 190
Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala
        195                 200                 205
Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg
    210                 215                 220
Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
225                 230                 235                 240
Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
                245                 250                 255
Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
            260                 265                 270
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
        275                 280                 285
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
    290                 295                 300
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
                325                 330                 335
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
            340                 345                 350
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
        355                 360                 365
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
    370                 375                 380
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
385                 390                 395                 400
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
                405                 410                 415
Pro Arg
```

<210> 224
<211> 418
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 224

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln
            20                  25                  30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala
```

```
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
                180                 185                 190
Phe Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala
        195                 200                 205
Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg
    210                 215                 220
Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro
225                 230                 235                 240
Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro
                245                 250                 255
Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
            260                 265                 270
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
        275                 280                 285
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
    290                 295                 300
    50                  55                  60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile
65                  70                  75                  80
Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
                85                  90                  95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
            100                 105                 110
Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu
        115                 120                 125
Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
    130                 135                 140
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
145                 150                 155                 160
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
                165                 170                 175
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
                325                 330                 335
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
            340                 345                 350
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
        355                 360                 365
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
    370                 375                 380
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
385                 390                 395                 400
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
                405                 410                 415
Pro Arg
```

<210> 225
<211> 417
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 225

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Lys
20 25 30
Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg
35 40 45
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
290 295 300
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
305 310 315 320
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
325 330 335
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
340 345 350
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
355 360 365
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
370 375 380
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
385 390 395 400
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
405 410 415
Arg

Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
165 170 175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
180 185 190
Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
195 200 205
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
210 215 220
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
225 230 235 240
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
245 250 255
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
260 265 270
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
275 280 285
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly
50 55 60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile
65 70 75 80
Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
85 90 95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met
100 105 110
Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg
115 120 125
Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
130 135 140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145 150 155 160

<210> 226
<211> 417
<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 226

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Ala Val Gln
            20                  25                  30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Arg Ala Phe Ser Thr Tyr Phe Met Ala
    50                  55                  60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Ile
65                  70                  75                  80
Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
                85                  90                  95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
            100                 105                 110
Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Arg
        115                 120                 125
Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
    130                 135                 140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145                 150                 155                 160
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
    290                 295                 300
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln
305                 310                 315                 320
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
                325                 330                 335
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
            340                 345                 350
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
        355                 360                 365
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
    370                 375                 380
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
385                 390                 395                 400
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
                405                 410                 415
Arg
```

```
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
                165                 170                 175
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
            180                 185                 190
Ala Cys Asp Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
        195                 200                 205
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
    210                 215                 220
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
225                 230                 235                 240
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
                245                 250                 255
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
            260                 265                 270
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
        275                 280                 285
```

<210> 227
<211> 376
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 227

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Gln
            20                  25                  30
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
145                 150                 155                 160
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
                165                 170                 175
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
            180                 185                 190
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
        195                 200                 205
Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
    210                 215                 220
Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
225                 230                 235                 240
Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
                245                 250                 255
```

```
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
            35                  40                  45
Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly
        50                  55                  60
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile
65                  70                  75                  80
Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
                85                  90                  95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met
            100                 105                 110
Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
        115                 120                 125
Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly
    130                 135                 140
Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
260                 265                 270
Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
        275                 280                 285
Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
    290                 295                 300
Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
305                 310                 315                 320
Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
                325                 330                 335
Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
            340                 345                 350
Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
        355                 360                 365
His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
    370                 375
```

<210> 228
<211> 373
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 228

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Gln Val Lys
            20                  25                  30
Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg
        35                  40                  45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly
    50                  55                  60
```

```
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
            180                 185                 190
Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
        195                 200                 205
Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
    210                 215                 220
Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
225                 230                 235                 240
Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
                245                 250                 255
Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
            260                 265                 270
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile
65                  70                  75                  80
Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
                85                  90                  95
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met
            100                 105                 110
Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg
        115                 120                 125
Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
    130                 135                 140
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
145                 150                 155                 160
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
                165                 170                 175
Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
            275                 280                 285
Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
    290                 295                 300
Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
305                 310                 315                 320
Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
                325                 330                 335
Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
            340                 345                 350
Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
        355                 360                 365
Ala Leu Pro Pro Arg
    370
```

<210> 229
<211> 372
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 229

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Val Asn Arg Thr Arg Arg Met His Glu Val Gln
20 25 30
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
35 40 45
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg
50 55 60
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser
65 70 75 80
Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
85 90 95
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu
100 105 110
Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser
115 120 125
Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
130 135 140
Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
145 150 155 160
Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
165 170 175
Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
180 185 190
Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
195 200 205
Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
210 215 220
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
225 230 235 240
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
245 250 255
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
260 265 270
Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
275 280 285
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
290 295 300
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
305 310 315 320
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
325 330 335
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
340 345 350
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
355 360 365
Leu Pro Pro Arg
370

<210> 230
<211> 372
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 230

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Pro Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ser
35 40 45
Thr Val Ser Ile Asn Val Met Ala Trp Tyr Arg Gln Val Ser Gly Lys
50 55 60
Gln Arg Glu Leu Val Ala Ala Val Thr Arg Asp Gly Arg Lys Ser Cys
65 70 75 80
Gly Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gly Ala Lys
85 90 95
Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
100 105 110
Val Tyr Leu Cys Gly Ala Asp Gly Trp Gly Ala Thr Thr Leu Asp Tyr
115 120 125
Thr Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
130 135 140
Ser Ala Ala Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
145 150 155 160
Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
165 170 175
Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala
180 185 190
Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
195 200 205
Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
210 215 220
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
225 230 235 240
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
245 250 255
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
260 265 270
Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
275 280 285
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
290 295 300
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
305 310 315 320
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
325 330 335
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
340 345 350
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
355 360 365
Leu Pro Pro Arg
370

<210> 231
<211> 364
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 231

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly
    50                  55                  60
Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Ser Ala Tyr Tyr Ala Glu
65                  70                  75                  80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
                85                  90                  95
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
            100                 105                 110
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
        115                 120                 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
    130                 135                 140
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
145                 150                 155                 160
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
                165                 170                 175
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
            180                 185                 190
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
        195                 200                 205
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
    210                 215                 220
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
225                 230                 235                 240
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
                245                 250                 255
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
            260                 265                 270
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
        275                 280                 285
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
    290                 295                 300
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
305                 310                 315                 320
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
                325                 330                 335
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
            340                 345                 350
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360
```

<210> 232
<211> 368
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 232

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ala Cys Glu Ala Pro Gly Ser
        35                  40                  45
Gly Asn Ser Ile Asn Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Arg Arg Glu Leu Val Ala Thr Ile Thr Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr
65                  70                  75                  80
Gly Pro Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Thr Arg Asp Asn Val Lys
                85                  90                  95
Asn Thr Val His Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala
            100                 105                 110
Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Glu Arg Leu Asp Gly Ser Gly Tyr Gly Tyr
        115                 120                 125
Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr
    130                 135                 140
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
                165                 170                 175
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
            180                 185                 190
Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
        195                 200                 205
Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
    210                 215                 220
Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
225                 230                 235                 240
Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
                245                 250                 255
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
            260                 265                 270
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
        275                 280                 285
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
    290                 295                 300
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
305                 310                 315                 320
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
                325                 330                 335
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
            340                 345                 350
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360                 365
```

<210> 233
<211> 367
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 233

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
        35                  40                  45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asn Ser Val Asn Gly Arg Phe Pro Ile Asn Arg Asn Asn Ala
                85                  90                  95
Glu Asn Leu Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Arg Lys Ser Ile Met Ser Ile Gln
        115                 120                 125
Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser
    130                 135                 140
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
145                 150                 155                 160
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
                165                 170                 175
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
            180                 185                 190
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
        195                 200                 205
Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
    210                 215                 220
Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
225                 230                 235                 240
Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
                245                 250                 255
Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
            260                 265                 270
Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
        275                 280                 285
Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
    290                 295                 300
Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
305                 310                 315                 320
Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
                325                 330                 335
Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
            340                 345                 350
Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360                 365
```

<210> 234
<211> 367
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 234

```
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
            195                 200                 205
Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
        210                 215                 220
Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
225                 230                 235                 240
Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
                245                 250                 255
Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
            260                 265                 270
Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
        275                 280                 285
Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
    290                 295                 300
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Ser Ser Ile Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Leu Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Gly Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg
        115                 120                 125
Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser
    130                 135                 140
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
145                 150                 155                 160
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
                165                 170                 175
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
            180                 185                 190
Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
305                 310                 315                 320
Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
                325                 330                 335
Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
            340                 345                 350
Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360                 365
```

<210> 235
<211> 362
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 235

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
245 250 255
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
260 265 270
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
275 280 285
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
290 295 300
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
305 310 315 320
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
325 330 335
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
340 345 350
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
50 55 60
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
65 70 75 80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
85 90 95
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
100 105 110
Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly
115 120 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala
130 135 140
Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
145 150 155 160
Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
165 170 175
Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
180 185 190
Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
195 200 205
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
210 215 220
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
225 230 235 240
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
355 360

<210> 236
<211> 366
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 236

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
        35                  40                  45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
            100                 105                 110
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
        115                 120                 125
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
    130                 135                 140
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
145                 150                 155                 160
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
                165                 170                 175
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
            180                 185                 190
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
        195                 200                 205
Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala
    210                 215                 220
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
225                 230                 235                 240
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
                245                 250                 255
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
            260                 265                 270
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
        275                 280                 285
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
    290                 295                 300
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
305                 310                 315                 320
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
                325                 330                 335
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
            340                 345                 350
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360                 365
```

<210> 237
<211> 367
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 237

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser
        35                  40                  45
Ile Asp Ser Ile Asn Thr Met Asp Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg
        115                 120                 125
Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser
    130                 135                 140
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
145                 150                 155                 160
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
                165                 170                 175
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
            180                 185                 190
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
        195                 200                 205
Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
    210                 215                 220
Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
225                 230                 235                 240
Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
                245                 250                 255
Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
            260                 265                 270
Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
        275                 280                 285
Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
    290                 295                 300
Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
305                 310                 315                 320
Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
                325                 330                 335
Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
            340                 345                 350
Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360                 365
```

<210> 238
<211> 366
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 238

```
Glu Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Gly Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Ser Ala
        115                 120                 125
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr His Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
    130                 135                 140
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
145                 150                 155                 160
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
                165                 170                 175
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
            180                 185                 190
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1                5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
        35                  40                  45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asn Ser Val Lys Gly Arg Phe Pro Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
        275                 280                 285
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
    290                 295                 300
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
305                 310                 315                 320
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
                325                 330                 335
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
            340                 345                 350
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360                 365

Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
        195                 200                 205
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
    210                 215                 220
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
225                 230                 235                 240
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
                245                 250                 255
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
            260                 265                 270
```

<210> 239
<211> 367
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 239

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Glu Phe
        35                  40                  45
Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Asp Thr Ser Gly Gln Thr Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Leu Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Ser Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Gly Val Tyr Phe Cys Ala Lys Arg Tyr Arg Gly Gly Thr Trp Tyr Gly
        115                 120                 125
Met Ala Asn Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser
    130                 135                 140
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
145                 150                 155                 160
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
                165                 170                 175
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
            180                 185                 190
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
        195                 200                 205
Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
    210                 215                 220
Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
225                 230                 235                 240
Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
                245                 250                 255
Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
            260                 265                 270
Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
        275                 280                 285
Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
    290                 295                 300
Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
305                 310                 315                 320
Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
                325                 330                 335
Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
            340                 345                 350
Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360                 365
```

<210> 240
<211> 366
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 240

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Leu Ser Ser Asn Thr Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Thr Thr Trp Asn Gly Arg Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Asn Thr Met Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala
        115                 120                 125
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
    130                 135                 140
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
145                 150                 155                 160
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
                165                 170                 175
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
            180                 185                 190
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
        195                 200                 205
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
    210                 215                 220
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
225                 230                 235                 240
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
                245                 250                 255
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
            260                 265                 270
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
        275                 280                 285
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
    290                 295                 300
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
305                 310                 315                 320
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
                325                 330                 335
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
            340                 345                 350
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360                 365
```

<210> 241
<211> 362
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 241

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu
    50                  55                  60
Leu Val Ala Asp Ile Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
65                  70                  75                  80
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
                85                  90                  95
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
            100                 105                 110
Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly
        115                 120                 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala
    130                 135                 140
Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
145                 150                 155                 160
Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
                165                 170                 175
Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
            180                 185                 190
Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
        195                 200                 205
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
    210                 215                 220
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
225                 230                 235                 240
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
                245                 250                 255
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
            260                 265                 270
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
        275                 280                 285
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
    290                 295                 300
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
305                 310                 315                 320
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
                325                 330                 335
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
            340                 345                 350
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360
```

<210> 242
<211> 350
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 242

```
Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro
                100                 105                 110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
            115                 120                 125
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
        130                 135                 140
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
145                 150                 155                 160
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
                165                 170                 175
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile

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

            180                 185                 190
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
        195                 200                 205
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
    210                 215                 220
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
225                 230                 235                 240
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
                245                 250                 255
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
            260                 265                 270
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
        275                 280                 285
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
    290                 295                 300
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
305                 310                 315                 320
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
                325                 330                 335
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            340                 345                 350
```

<210> 243
<211> 371
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 243

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Glu Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
        35                  40                  45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Thr Ala Ser Cys His Leu Phe Gly Leu
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Ala Phe Val Ser Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val
    130                 135                 140
Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
145                 150                 155                 160
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
                165                 170                 175
Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
            180                 185                 190
Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
        195                 200                 205
Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
    210                 215                 220
Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
225                 230                 235                 240
Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
                245                 250                 255
Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
            260                 265                 270
Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
        275                 280                 285
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
    290                 295                 300
Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
305                 310                 315                 320
Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
                325                 330                 335
Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
            340                 345                 350
Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
        355                 360                 365
Pro Pro Arg
    370
```

<210> 244
<211> 362
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 244

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe His Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    50                  55                  60
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
65                  70                  75                  80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
                85                  90                  95
Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
            180                 185                 190
Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
        195                 200                 205
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
    210                 215                 220
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
225                 230                 235                 240
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
                245                 250                 255
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
            260                 265                 270
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
            100                 105                 110
Tyr Cys Ala Ala Ser Lys Asp Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly
        115                 120                 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala
    130                 135                 140
Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
145                 150                 155                 160
Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
                165                 170                 175
        275                 280                 285
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
    290                 295                 300
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
305                 310                 315                 320
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
                325                 330                 335
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
            340                 345                 350
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360
```

<210> 245
<211> 360
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 245

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    50                  55                  60
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
65                  70                  75                  80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
                85                  90                  95
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
            100                 105                 110
Tyr Cys Ala Lys Lys Asn Gly Gly Pro Val Asp Tyr Trp Gly Lys Gly
        115                 120                 125
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
    130                 135                 140
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
145                 150                 155                 160
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
                165                 170                 175
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
            180                 185                 190
Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
        195                 200                 205
Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
    210                 215                 220
Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
225                 230                 235                 240
Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
                245                 250                 255
Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
            260                 265                 270
Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
        275                 280                 285
Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
    290                 295                 300
Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
305                 310                 315                 320
Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
                325                 330                 335
Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
            340                 345                 350
His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360
```

<210> 246
<211> 365
<212> PR
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 246

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Ser Ser Ile Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
            275                 280                 285
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
    290                 295                 300
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
305                 310                 315                 320
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
                325                 330                 335
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
            340                 345                 350
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360                 365
Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
            195                 200                 205
Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
    210                 215                 220
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
225                 230                 235                 240
Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
                245                 250                 255
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
            260                 265                 270
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu
        115                 120                 125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr
    130                 135                 140
Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
145                 150                 155                 160
Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
                165                 170                 175
Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
            180                 185                 190
```

<210> 247
<211> 364
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 247

```
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
    210                 215                 220
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
225                 230                 235                 240
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
                245                 250                 255
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
            260                 265                 270
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
        275                 280                 285
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Trp Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    50                  55                  60
Phe Val Thr Ala Ile Asn Leu Ser Pro Thr Leu Thr Tyr Tyr Ala Glu
65                  70                  75                  80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Pro Ile Ser Arg Asn Asn Ala Gln Asn Thr
                85                  90                  95
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
            100                 105                 110
Tyr Cys Ala Ala Glu Arg Lys Ser Val Met Ala Ile Pro Pro Asp Tyr
        115                 120                 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
    130                 135                 140
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
145                 150                 155                 160
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
                165                 170                 175
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
            180                 185                 190
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
        195                 200                 205
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
    210                 215                 220
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
225                 230                 235                 240
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
                245                 250                 255
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
            260                 265                 270
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        275                 280                 285
```

<210> 248
<211> 364
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 248

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Met Gly Gly Phe Arg Arg Val Pro Arg Asp Glu Arg Glu
    50                  55                  60
Phe Val Ala Ser Ile Thr Leu Ile Pro Thr Phe Pro Tyr Tyr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Ala Leu Phe Arg Asp Asn Pro Asn Asn Thr
                85                  90                  95
Val Ile Leu Leu Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Pro Asp Leu Tyr
            100                 105                 110
Tyr Cys Ala Ser Tyr Arg Lys Tyr Leu Met Ser Ile Leu Pro Asp Tyr
        115                 120                 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Gly Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
    130                 135                 140
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
145                 150                 155                 160
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
                165                 170                 175
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
            180                 185                 190
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
        195                 200                 205
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
    210                 215                 220
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
225                 230                 235                 240
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
                245                 250                 255
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
            260                 265                 270
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
        275                 280                 285
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
    290                 295                 300
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
305                 310                 315                 320
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
                325                 330                 335
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
            340                 345                 350
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360
```

<210> 249
<211> 370
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 249

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
            210                 215                 220

Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
225                 230                 235                 240

Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
                245                 250                 255

Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
            260                 265                 270

Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
        275                 280                 285

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
    290                 295                 300

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
305                 310                 315                 320

Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
                325                 330                 335

Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
            340                 345                 350

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
        355                 360                 365

Val Asp Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
    370                 375                 380

Phe Cys Ala Ala Asn Arg Asn Ser Gln Arg Val Ile Ala Ala Leu Ser
385                 390                 395                 400

Trp Ile Gly Met Asn Tyr Trp Gly Glu Trp Thr Gln Val Thr Val Ser
                405                 410                 415

Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro
            420                 425                 430

Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro
        435                 440                 445

Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
    450                 455                 460

Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
465                 470                 475                 480

Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
                485                 490                 495

Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
            500                 505                 510

Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
        515                 520                 525

Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
    530                 535                 540

Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
545                 550                 555                 560

Pro Arg
```

<210> 250
<211> 362
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 250

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    50                  55                  60
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
65                  70                  75                  80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr
                85                  90                  95
Leu Tyr Leu Arg Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            100                 105                 110
Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly
        115                 120                 125
Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala
    130                 135                 140
Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
145                 150                 155                 160
Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
                165                 170                 175
Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
            180                 185                 190
Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
        195                 200                 205
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
    210                 215                 220
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
225                 230                 235                 240
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
                245                 250                 255
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
            260                 265                 270
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
        275                 280                 285
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
    290                 295                 300
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
305                 310                 315                 320
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
                325                 330                 335
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
            340                 345                 350
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        355                 360
```

<210> 251
<211> 362
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 251

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Arg Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
50 55 60
Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Asn Ala Ser Tyr Ala Asp
65 70 75 80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr
85 90 95
Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
100 105 110
Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
115 120 125
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
130 135 140
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
145 150 155 160
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
165 170 175
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
180 185 190
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
195 200 205
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
210 215 220
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
225 230 235 240
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
245 250 255
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
260 265 270
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
275 280

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

<210> 252
<211> 365
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 252

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
35 40 45
Thr Phe Ser Asn His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
115 120 125
Ser Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr
130 135 140
Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
145 150 155 160
Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
165 170 175
Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
180 185 190
Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
195 200 205
Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
210 215 220
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
225 230 235 240
Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
245 250 255
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
260 265 270
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
275 280 285
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
290 295 300
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
305 310 315 320
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
325 330 335
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
340 345 350
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
355 360 365

<210> 253
<211> 369
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 253

Glu Asn Thr Val Arg Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Gly
100 105 110
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Arg Pro Leu Trp Tyr Gly Ser Pro
115 120 125
Thr Leu Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
130 135 140
Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr
145 150 155 160
Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala
165 170 175
Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile
180 185 190

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

Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
290 295 300
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
305 310 315 320
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
325 330 335
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
340 345 350
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
355 360 365
Arg

Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser
195 200 205
Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
210 215 220
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
225 230 235 240
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
245 250 255
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
260 265 270
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
275 280 285

<210> 254
<211> 364
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 254

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
50 55 60
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
65 70 75 80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
85 90 95
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
100 105 110
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
115 120 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
130 135 140
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
145 150 155 160
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
165 170 175
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
180 185 190
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
195 200 205
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
210 215 220
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
290 295 300
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
305 310 315 320
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
325 330 335
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
340 345 350
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
355 360

Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
225 230 235 240
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
245 250 255
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
260 265 270
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
275 280 285

<210> 255
<211> 364
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 255

Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
100 105 110
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
115 120 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
130 135 140
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
145 150 155 160
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
165 170 175
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
180 185 190
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
195 200 205
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
210 215 220
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
225 230 235 240
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
245 250 255
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
260 265 270
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Ala Val Gln Leu Val Asp Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
50 55 60
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
65 70 75 80
Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
85 90 95
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
275 280 285
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
290 295 300
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
305 310 315 320
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
325 330 335
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
340 345 350
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
355 360

<210> 256
<211> 367
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 256

Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg
115 120 125
Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser
130 135 140
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
145 150 155 160
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
165 170 175
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
180 185 190
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
195 200 205
Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
210 215 220
Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
225 230 235 240
Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
245 250 255
Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
260 265 270
Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
275 280 285
Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
290 295 300
Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
305 310 315 320
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30
Val Gln Thr Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Leu Asn Asn Phe Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr
65 70 75 80
Tyr Val Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
325 330 335
Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
340 345 350
Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
355 360 365

<210> 257
<211> 1263
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 257

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcagcctg gggqttctct gaggctctcc tgtgaagcct ctggattcac tttggattat 180
tatgccatag gctggttccg ccaggcccca gggaaggagc gcgaggggqt catatgtatt 240
agtagaagtg atggtagcac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaaaac ggtgtatctg caaatgatca gcctgaaacc tgaggacacg 360
gccgcttatt actgtgcagc aggggccgat tgttcggggt acctacgaga ttatgagttc 420
cgggggcagg ggacccaggt caccgtctcc tcaactagta ccacgacgcc agcgccgcga 480
ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg cagcccctgt ccctgcgccc agaggcgtgc 540
cggccagcgg cgggggggcgc agtgcacacg aggggqctgg acttcgcctg tgatttttgg 600
gtgctggtgg tggttggtgg agtcctggct tgctatagct tgctagtaac agtggccttt 660
attattttct gggtgaggag taagaggagc aggctcctgc acagtgacta catgaacatg 720
actccccgcc gccccgggcc cacccgcaag cattaccagc cctatgcccc accacgcgac 780
ttcgcagcct atcgctccaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 840
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 900
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg 960
tacaagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1020
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg gggqaaagcc gagaaggaag 1080
aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1140
gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1200
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1260
tga 1263

<210> 258
<211> 1281
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 258

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtaaagctgg aggagtctgg gggacgattg 120
gtgcagccaa ggggctctct gagactctcc tgtgcaggct ctggacgcac tttcagtacc 180
tatggtatgg cctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagttcgt agcgtctaaa 240
gcatcgatga attacagcgg tagaacatac tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc 300
atcgccagag acaacgccaa gaacatggtg tttctgcaaa tgaacaacct gaagcctgag 360
gacacggccg tttattactg tgcagcgggc actggatgct caacatatgg gtgttttgac 420
gcccagataa tagactactg gggcaaaggg accctggtca ccgtctcctc aactagtacc 480
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 540
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag gggqctggac 600
ttcgcctgtg attttttgggt gctggtggtg gttggtggag tcctggcttg ctatagcttg 660
ctagtaacag tggcctttat tattttctgg gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac 720
agtgactaca tgaacatgac tccccgccgc cccgggccca ccccgcaagca ttaccagccc 780
tatgccccac cacgcgactt cgcagcctat cgctccaaac ggggcagaaa gaaactcctg 840

tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 900
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg 960
agcgcagacg ccccccgcgta caagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1020
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1080
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1140
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggaggag caaggggcac 1200
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg 1260
caggccctgc ccctcgctg a 1281

<210> 259
<211> 1251

<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 259

```
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcaggctg gggggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctggacgcac cttcaccatg 180
gggtggttcc gtcaggctcc agggaaggag cgtgagtttg tagcagctat tagtttgagt 240
cctactttag catattatgc agagtccgtg aagggccgat tcaccatcag ccgagacaac 300
gccaagaaca cggtggtttt gcaaatgaac agcctgaaac ctgaggacac ggccctttat 360
tactgtgcag cagaccggaa atcagtaatg tctattcggc ccgactactg gggccagggg 420
acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg 480
gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg 540
ggggcgcag tgcacacgag ggggctggac ttcgcctgtg atttttgggt gctggtggtg 600
gttggtggag tcctggcttg ctatagcttg ctagtaacag tggcctttat tattttctgg 660
gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac agtgactaca tgaacatgac tccccgccgc 720
cccgggccca cccgcaagca ttaccagccc tatgccccac cacgcgactt cgcagcctat 780
cgctccaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatattca aacaaccatt tatgagacca 840
gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 900
ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg agcgcagacg cccccgcgta caagcagggc 960
cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 1020
aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa 1080
ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1140
aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc 1200
accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg caggccctgc ccctcgctg a           1251
```

<210> 260
<211> 1257
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 260

```
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgcc gtgcagctgg tggattctgg gggaggcttg 120
gtgcagcctg gggggtctct gagactctcc tgtgtagcct ctggaggtat cttcgtcatc 180
aatgccatgg gctggtaccg ccaggctcca ggaaagcagc gcgagttggt cgcatctatt 240
cgtggactag gcagaacaaa ctatgacgac tccgtgaagg gccgattcac catctccaga 300
gacaacgcca acaacacggt gtatctgcag atgaacagcc tggaacctga ggacacggcc 360
gtctactact gtacagtcta cgttacacta cttggtgggg ttaataggga ctactggggc 420
caggggaccc aggtcaccgt ctcctcaact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 540
gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
gtggtggttg gtggagtcct ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
ttctgggtga ggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720
cgccgccccg ggcccacccg caagcattac cagccctatg ccccaccacg cgacttcgca 780
gcctatcgct ccaaaacggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 840
```

agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 900
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atgggggaaa agccgagaag gaagaaccct 1080
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1140
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1200
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgccccc tcgctga 1257

<210> 261
<211> 1254
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 261

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg gggctctct gagactctcc tgtgcagcct ctggacggac cttcagtagc 180
attgtcatgg gctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtttgt aggagcgatt 240
atgtggaatg atggtattac atacttgcaa gactccgtga agggccgatt taccatcttc 300
agagacaatg ccaagaacac ggtgtatctg caaatgaaca gcctgaaact tgaggatacg 360
gccgtttatt actgtgcagc atccaaggat agatactcgg aatatgagta ctggggccag 420
gggacccagg tcaccgtctc ctcaactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcgggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtggttggtg gagtcctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattatttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccacccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgcga cttcgcagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254

<210> 262
<211> 1281
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 262

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcgtg 120
gtgcaggctg gggggtctct gacagtctcc tgtacagcct ctggattcac tttcgaccgt 180
gctgtcatag tctggttccg ccaggccccc gggaagggcc gtgagggggt ctcatttatt 240
aaacctagtg atggcaccat atactacatt gactccctga agggccgatt cacgatctcc 300
agtgacatcg ccaagaatac ggtatatctg caaatgaaaa gtctggaatc ggaggactcg 360
gccgtttatt actgtgcggc ctcgcctgag gactggtaca cggattggat cgactggagt 420
atatatcggt ggcagcactg gggccagggg acccaggtca ctgtctcctc aactagtacc 480

acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 540
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac 600
ttcgcctgtg atttttgggt gctggtggtg gttggtggag tcctggcttg ctatagcttg 660
ctagtaacag tggcctttat tattttctgg gtgaggagta agaggagcag gctcctgcac 720
agtgactaca tgaacatgac tccccgccgc cccgggccca ccgcaagca ttaccagccc 780
tatgccccac cacgcgactt cgcagcctat cgctccaaac ggggcagaaa gaaactcctg 840
tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 900
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg 960
agcgcagacg ccccccgcgta caagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1020
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1080
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1140
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1200
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg 1260
caggccctgc ccctcgctg a 1281

<210> 263
<211> 1254
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 263

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggaatg 120
gtgcaggctg gggactctct gagactatcc tgtgtgcagt ctacttacac cgtcaatagc 180
gatgtcatgg gctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtttgt aggagcgatt 240
atgtggaatg atggtattac atacttgcaa gactccgtga agggccgatt taccatcttc 300
agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg caaatgaaca gcctgaaact tgaggatacg 360
gccgtttatt actgtgcagc atccaaggggt agatactcgg aatatgagta ctggggccag 420
gggacccagg tcaccgtctc ctcaactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcgggggcg cagtgcacac gaggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtggttggtg gagtcctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattatttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccacccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgcga cttcgcagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaaacaacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccgga ccctgagatg ggggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgccccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254

<210> 264
<211> 1257
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 264

```
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 540
gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
gtggtggttg gtggagtcct ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
ttctgggtga ggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720
cgccgccccg ggcccacccg caagcattac cagccctatg ccccaccacg cgacttcgca 780
gcctatcgct ccaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 840
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 900
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgcg gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg gggactctct gagactctcc tgtacagcct ctggtgcaac cttgactaac 180
gatcacatgg catggttccg ccaggctcca gggaaggggc gtgaatttgt agcagctatt 240
gactggagtg gtcgtaccac aaattacgca gaccccgtag agggccgatt caccatctcc 300
agaaacaacg ccaagaacac ggtgtatctg gaaatgaaca gcctgaaact tgaggacacg 360
gccgtttatt actgtgcggt cctccgcgct tggatctcat atgacaatga ctactggggc 420
caggggaccc aggtcaccgt ctcctcaact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1080
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1140
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1200
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgccccc tcgctga 1257
```

<210> 265
<211> 1257
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 265

```
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg gggctctct gagactctcc tgtgcagcct ctggaggcac cttaagtaaa 180
aataccgtgg cttggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgggtttgt agcgtctatt 240
acctgggatg gtcgtacgac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaacac agtgtatctg caaatgaaca gcctgaaacc tgaggatacg 360
gccgtttatg tctgtgcaga cttagggaaa tggcctgcgg gcccggcgga ctactggggc 420
caggggaccc aggtcaccgt ctcctcaact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 480
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 540
gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgattt ttgggtgctg 600
gtggtggttg gtggagtcct ggcttgctat agcttgctag taacagtggc ctttattatt 660
ttctgggtga ggagtaagag gagcaggctc ctgcacagtg actacatgaa catgactccc 720
cgccgccccg ggcccacccg caagcattac cagccctatg ccccaccacg cgacttcgca 780
gcctatcgct ccaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 840
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 900
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtacaag 960
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1020
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1080
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1140
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1200
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgccccc tcgctga 1257
```

<210> 266
<211> 1254
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 266

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtaaagctgg aggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcaggctg ggcggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctgaacacac cttcagtagc 180
catgtcatgg gctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtctgt tgcagttatt 240
ggctggagag atattagcac aagctatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaagac gctgtatctg caaatgaata gcctgaaacc tgaggacacg 360
gccgtttact actgtgcagc acgtcggatc gacgcagctg actttgattc ctggggcag 420
gggacccagg tcaccgtctc ctcgactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcgggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtggttggtg gagtcctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattatttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccacccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgcga cttcgcagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccccgc gtacaagcag 960

ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccgga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254

<210> 267
<211> 1254
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 267

```
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgcg gtgcagctgg tggagtctgg gggaggattg 120
gtgcaggctg gggactctct gagactcacc tgtacagcct ctggacgcgc cttcagtacc 180
tatttcatgg cctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtttgt agcaggaatt 240
gcatggagtg gtggtagcac ggcgtatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaacac ggtgtatctg caaatgaaca gcctgaaatc tgaggacacg 360
gccgtttatt actgtgccag cagggggatt gaggtcgaag agtttggtgc ctggggccag 420
gggaccctgg tcaccgtctc gtcgactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatttttg ggtgctggtg 600
gtggttggtg gagtcctggc ttgctatagc ttgctagtaa cagtggcctt tattattttc 660
tgggtgagga gtaagaggag caggctcctg cacagtgact acatgaacat gactccccgc 720
cgccccgggc ccacccgcaa gcattaccag ccctatgccc caccacgcga cttcgcagcc 780
tatcgctcca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 840
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 900
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgcccccgc gtacaagcag 960
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1020
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1080
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1140
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1200
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctga 1254
```

<210> 268
<211> 1131
<212> ДНК

<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 268

```
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcagcctg ggggttctct gaggctctcc tgtgaagcct ctggattcac tttggattat 180
tatgccatag gctggttccg ccaggcccca gggaaggagc gcgagggggt catatgtatt 240
agtagaagtg atggtagcac atactatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaaaac ggtgtatctg caaatgatca gcctgaaacc tgaggacacg 360
gccgcttatt actgtgcagc aggggccgat tgttcggggt acctacgaga ttatgagttc 420
cggggcaggg ggacccaggt caccgtctcc tcaactagta ccacgacgcc agcgccgcga 480
ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg cagcccctgt ccctgcgccc agaggcgtgc 540
cggccagcgg cggggggcgc agtgcacacg agggggctgg acttcgcctg tgatatctac 600
atctgggcgc ccttggccgg gacttgtggg gtccttctcc tgtcactggt tatcaccctt 660
tactgcaaac gggcagaaa gaaactcctg tatatattca aacaaccatt tatgagacca 720
gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 780
ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg agcgcagacg cccccgcgta ccagcagggc 840
cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 900
aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa 960
ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1020
aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc 1080
accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg caggccctgc ccctcgcta a 1131
```

<210> 269
<211> 1122
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 269

```
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatcag gtaaagctgg aggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcaggctg ggcggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctgaacacac cttcagtagc 180
catgtcatgg gctggttccg ccaggctcca gggaaggagc gtgagtctgt tgcagttatt 240
ggctggagag atattagcac aagctatgca gactccgtga agggccgatt caccatctcc 300
agagacaacg ccaagaagac gctgtatctg caaatgaata gcctgaaacc tgaggacacg 360
gccgtttact actgtgcagc acgtcggatc gacgcagctg actttgattc ctgggggcag 420
gggacccagg tcaccgtctc ctcgactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 480
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 540
gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg 600
ccccttggccg ggacttgtgg ggtccttctc ctgtcactgg ttatcaccct ttactgcaaa 660
cggggcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaaccat ttatgagacc agtacaaact 720
actcaagagg aagatggctg tagctgccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 780
ctgagagtga agttcagcag gagccgcagac gcccccgcgt accagcaggg ccagaaccag 840
ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttgga caagagacgt 900
ggccgggacc ctgagatggg ggggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 960
aatgaactgc agaaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag 1020
cgccggaggg gcaagggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac 1080
acctacgacg cccttcacat gcaggccctg ccccctcgct aa                     1122
```

<210> 270
<211> 1119
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 270

```
atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60
ccggttaacc gcacgcgtcg catgcatgag gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg 120
gtgcaggctg gggggtctct gagactctcc tgtgcagcct ctggacgcac cttcaccatg 180
gggtggttcc gtcaggctcc agggaaggag cgtgagtttg tagcagctat tagtttgagt 240
cctactttag catattatgc agagtccgtg aagggccgat tcaccatcag ccgagacaac 300
gccaagaaca cggtggtttt gcaaatgaac agcctgaaac ctgaggacac ggccctttat 360
tactgtgcag cagaccggaa atcagtaatg tctattcggc ccgactactg gggccagggg 420
acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg 480
gcgcccacca tcgcgtcgca gccccctgtcc ctgcgccccag aggcgtgccg gccagcggcg 540
gggggcgcag tgcacacgag ggggctggac ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc 600
ttggccggga cttgtggggt ccttctcctg tcactggtta tcaccctttа ctgcaaacgg 660
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaactact 720
caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 780
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 840
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 900
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 960
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1020
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1080
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgctaa                     1119
```

<210> 271
<211> 1113
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 271

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgaggtgc agctggtgga gtctgggggg ggcttggtgc cgcctggggg gtctctgaga 120
ctctcctgta cagcctctgg aagcacagtc agcatcaatg tcatggcctg gtaccgccag 180
gtttcaggga agcagcgcga gttggtcgcg gccgttacta gggatggtag gaaaagttgt 240
ggagactccg tgaagggccg attcaccatt tccagagacg gcgccaagaa tgcggtatat 300
ttgcaaatga acagtctgaa acctgaggac acagcggtct atttatgtgg agccgatggt 360
tggggtgcta ctaccttaga ttatacctac ggcatggact attggggcaa agggacccag 420
gtcaccgtct cctcaactag taccacgacg ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc 480
accatcgcgt cgcagccctc gtccctgcgc ccagaggcgt gccggccagc ggcggggggc 540
gcagtgcaca cgaggggact ggacttcgcc tgtgatatct acatctgggc gcccttggcc 600
gggacttgtg gggtccttct cctgtcactg gttatcaccc tttactgcaa acggggcaga 660
aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca tttatgagac cagtacaaac tactcaagag 720
gaagatggct gtagctgccg atttccagaa gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg 780
aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg taccagcagg gccagaacca gctctataac 840
gagctcaatc taggacgaag agaggagtac gatgttttgg acaagagacg tggccgggac 900
cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg 960
cagaaagata agatggcgga ggcctacagt gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg 1020
ggcaagggac acgatggcct ttaccagggt ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac 1080
gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc taa                              1113
```

<210> 272
<211> 1095
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 272

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgcggtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttc accatggggt ggttccgtca ggctccaggg 180
aaggagcgtg ggtttgtagc gtctattacc tgggatggtc gttcggcata ctatgcagag 240
tccgtgaagg gccgattcac catcagccga gacaacgcca agaacacggt ggttttgcaa 300
atgaacagcc tgaaacctga ggacacggcc ctttattact gtgcagcaga ccggaaatca 360
gtaatgtcta ttcggcccga ctactggggc caggggaccc aggtcaccgt ctcctcaact 420
agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 480
ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca cacgagggag 540
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 600
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacgggggca gaaagaaact cctgtatata 660
ttcaaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 720
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 780
gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 840
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat gggggggaaag 900
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 960
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1020
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgccccttca catgcaggcc 1080
ctgccccctc gctaa                                                  1095
```

<210> 273
<211> 1107
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 273

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtac agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc agcctggggg gtctctaaga 120
ctcgcatgtg aagcgcctgg aagcggcaat agtatcaatg ccatgggctg gtaccggcag 180
actcccgggg agcggcgcga gttggtcgca actattactc ggggtggtag cacgaactat 240
ggaccctccg tgaagggccg attcacgatc accagagaca atgtcaagaa tacggtgcat 300
ctgcagatga acagcctgaa acctgacgac acggccgtct attattgcaa tgcggagagg 360
ctggacggct cggggtacgg atatgagtat gattactggg gccaggggac ccaggtcacc 420
gtctcctcaa ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 480
gcgtcgcagc cctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 540
cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 600
tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc acccttttact gcaaacgggg cagaaagaaa 660
ctcctgtata tattcaaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 720
ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 780
agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 840
aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 900
atggggggaa agccgagaag gaagaaccct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 960
gataagatgg cggaggccta cagtgagatt gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag 1020
gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt acagccacca aggacaccta cgacgccctt 1080
cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa                                     1107
```

<210> 274
<211> 1104
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 274

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtaaacgg ccgattcccc atcaaccgaa acaacgccga gaatttggtg 300
gttttgcaaa tgaacagcct gaaacctgac gacacggccc tttattactg tgcagcatac 360
cggaagtcaa taatgtctat tcagcccgac tactggggcc aggggaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 480
tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 540
acgaggggcc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgccccttggc cgggacttgt 600
ggggtcctte tcctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacgggggcag aaagaaactc 660
ctgtatatat tcaaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 720
tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc 780
aggagcgcag acgccccgcc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctccaat 840
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccgggga ccctgagatg 900
ggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 960
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaaggggg 1020
cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1080
atgcaggccc tgccccctcg ctaa                                        1104
```

<210> 275
<211> 1104
<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 275

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgatgtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acggaccttc agtagcattg tcatgggctg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagga gcgattatgt ggaatgatgg tctgacatac 240
ttgcaagggt ccgtgaaggg ccgattcacc atttccagag acaacgccaa gaacacggtg 300
gttttgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gacacggccc tttattactg tgcagcagac 360
cggaaatcag taatgtctat tcggccccgac tactggggcc agggaaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 480
tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 540
acgaggggcc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgccccttggc cgggacttgt 600
ggggtcctta tcctgtcact ggttatcacc cttactgcaa aacgggcaag aaagaaactc 660
ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 720
tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc 780
aggagcgcag acgcccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 840
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccgggg ccctgagatg 900
gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 960
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg 1020
cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1080
atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1104

<210> 276
<211> 1089
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 276

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtac agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcacctto accatggggt ggttccgtca ggctccaggg 180
aaggagcgtg agtttgtagc agctattagt ttgagtccta ctttagcata ttatgcagag 240
tccgtgaagg gccgattcac catcagccga gacaacgcca agaacacggt ggtttgcaaa 300
atgaacagcc tgaaacctga ggacacggcc gtttactact gtgcagcacg tcggatcgac 360
gcagctgact ttgattcctg gggtcagggg acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc 420
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 480
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag gggctggac 540
ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc ttggccgggg cttgtggggt ccttctcctg 600
tcactggtta tcacccttta ctgcaaacgg ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa 660
caaccattta tgagaccagt acaaactact caagaggaag atggctgtag ctgccgattt 720
ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc 780
cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag 840
gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc cgggacoctg agatgggggg aaagccgaga 900
aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc 960
tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 1020
cagggtctca gtacagccac caaggacacc tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc 1080
cctcgctaa 1089

<210> 277

<211> 1101
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 277

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtac agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcaccttc agtaaaaata ccgtggcttg gttccgccag 180
gctccagggg aggagcgtgg gtttgtagcg tctattacct gggatggtcg tacgacatac 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg tttatgtctg tgcagactta 360
gggaaatggc ctgcgggccc ggcggactac tggggccagg ggacccaggt caccgtctcc 420
tcaactagta ccacgacgcc agcgccgcga ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg 480
cagccectgt ccctgcgccc agaggcgtgc cggccagcgg cggggggcgc agtgcacacg 540
aggggctgg acttcgcctg tgatatctac atctgggcgc ccttggccgg gacttgtggg 600
gtccttctcc tgtcactggt tatcaccctt tactgcaaac gggcagaaa gaaactcctg 660
tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 720
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg 780
agcgcagacg cccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 840
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 900
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 960
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1020
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg 1080
caggccctgc ccctcgcta a                                           1101
```

<210> 278
<211> 1104
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 278

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtgc agctggtgga gtctgggggg ggcttggtgc agcctggggg gtctctgaca 120
ctctcctgtg cagcctctgg aagcatcgac agtatcaata ccatggactg gttccgtcag 180
gctccagggg aggagcgtga gtttgtagca gctattagtt tgagtcccac tttagcatat 240
tatgcagagt ccgtgaaggg ccgattcacc atcagccgag acaacgccaa gaacacggtg 300
gttttgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gacacggccc tttattactg tgcagcagac 360
cggaaatcag taatgtctat tcggccccgac tactggggcc aggggaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 480
tcgcagcccc tgtccctgcg ccgagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 540
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgccctggcc cgggacttgt 600
ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacgggggcag aaagaaactc 660
ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 720
tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc 780
aggagcgcag acgccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 840
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccgga ccctgagatg 900
ggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 960
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg 1020
cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1080
atgcaggccc tgccccctcg ctaa                                       1104
```

<210> 279
<211> 1101
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 279

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgatgtgc agctggtgga gtctggggga ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtgaaggg ccgattcccc atctccagag acaacgccga gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg gttatgtctg tgcagactta 360
gggaagtggc ctgcgggttc ggcggactac tggggccagg ggacccacgt caccgtctcc 420
tccactagta ccacgacgcc agcgccgcga ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg 480
cagccgctgt ccctgcgccc agaggcgtgc cggccagcgg cggggggcgc agtgcacacg 540
aggggctgg acttcgcctg tgatatctac atctgggcgc ccttggccgg gacttgtggg 600
gtccttctcc tgtcactggt tatcaccctt tactgcaaac gggycagaaa gaaactcctg 660
tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 720
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg 780
agcgcagacg cccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 840
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 900
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 960
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggaggcg caaggggcac 1020
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg 1080
caggccctgc ccctcgcta a 1101

<210> 280
<211> 1104
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 280

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga gtctggggga ggcttggtgc agcctggggg gtctctgaga 120
ctctcctgta cagcctcgga attcacattc agtgactact ggatgcattg ggtccgtcag 180
gctccgggga agggggctcga gtgggtcgca tctatagata ctagtggaca gaccacatac 240
tatgcagact ccctgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gagcacgttg 300
tatctgcaaa tgaacagtct gaaatctgaa gacacgggcg tgtatttctg tgcaaaacga 360
tatagggggtg gtacctggta tggcatggcc aactggggca aagggaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 480
tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 540
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgccccttggc cgggacttgt 600
ggggtcctte tcctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc 660
ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 720
tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc 780
aggagcgcag acgccccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 840
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccgggga ccctgagatg 900
ggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 960
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaaggag 1020
cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1080
atgcaggccc tgccccctcg ctaa                                        1104
```

<210> 281
<211> 1101
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 281

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttа agtagtaata ccatggcttg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagcg tctactacct ggaatggtcg tagcacatac 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaacacgatg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg tttatgtctg tgcagactta 360
gggaaatggc ctgcgggccc ggcggactac tggggccagg ggaccccaggt caccgtctcc 420
tcaactagta ccacgacgcc agcgccgcga ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg 480
cagcccctgt ccctgcgccc agaggcgtgc cggccagcgg cggggggcgc agtgcacacg 540
agggggctgg acttcgcctg tgatatctac atctgggcgc ccttggccgg gacttgtggg 600
gtccttctcc tgtcactggt tatcaccctt tactgcaaac ggggcagaaa gaaactcctg 660
tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt 720
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg 780
agcgcagacg cccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 840
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 900
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 960
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1020
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg 1080
caggccctgc cccctcgcta a                                           1101
```

<210> 282
<211> 1089
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 282

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttc accatggggt ggttccgtca ggctccaggg 180
aagcagcgcg aattggtcgc agatattagt ggtggtcgca caaactatgc agattccgtg 240
aagggacgat tcaccatctc cagagacaac gccaagaaca cggtatatct gcaaatgaac 300
agcctgaaac ctgaggacac ggccgtttat tactgtgcag cagaccggaa atcagtaatg 360
tctattcggc ccgactactg gggccagggg acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc 420
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 480
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcgggg gggggcgcag tgcacacgag gggctggac 540
ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc ttggccgggg ctttgtgggt ccttctcctg 600
tcactggtta tcaccctttа ctgcaaacgg ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa 660
caaccattta tgagaccagt acaaactact caagaggaag atggctgtag ctgccgattt 720
ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc 780
cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag 840
gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga 900
aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc 960
tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 1020
cagggtctca gtacagccac caaggacacc tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc 1080
cctcgctaa 1089

<210> 283
<211> 1053
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 283

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtgc agctggtgga gtctgggggg ggcttggtgc aggctggggc ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttc accgtggcag ctattagttt gagtcctact 180
ttagcatatt atgcagagtc cgtgaagggc cgattcacca tcagccgaga caacgccaag 240
aacacggtgg tttgcaaat gaacagcctg aaacctgagg acacggccct ttattactgt 300
gcagcagacc ggaaatcagt aatgtctatt cggccccgact actggggcca ggggacccag 360
gtcaccgtct cctcaactag taccacgacg ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc 420
accatcgcgt cgcagcccct gtccctgcgc ccagaggcgt gccggccagc ggcgggaggc 480
gcagtgcaca cgaggggct ggacttcgcc tgtgatatct acatctgggc gcccttggcc 540
gggacttgtg gggtcttct cctgtcactg gttatcaccc tttactgcaa acgggcaga 600
aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca tttatgagac cagtacaaac tactcaagag 660
gaagatggct gtagctgccg atttccagaa gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg 720
aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg taccagcagg gccagaacca gctctataac 780
gagctcaatc taggacgaag agaggagtac gatgttttgg acaagagacg tggccgggac 840
cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg 900
cagaaagata agatggcgga ggcctacagt gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg 960
ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac 1020
gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc taa 1053

<210> 284
<211> 1116
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 284

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgatgtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggagc agggctgggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcaccttc agtaaaaata ccgtggcttg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtagcg tctattacct gggatggtcg tacgacatac 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg tttattactg tgcgtcgacg 360
gcatcgtgcc acctcttcgg attgggggtcc ggggcctttg tgtcctgggg ccgggggacc 420
caggtcaccg tctcctcaac tagtaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 480
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 540
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 600
gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg caaacgggcc 660
agaaagaaac tcctgtatat attcaaacaa ccatttatga gaccagtaca aactactcaa 720
gaggaagatg gctgtagctg ccgatttcca gaagaagaag aaggaggatg tgaactgaga 780
gtgaagttca gcaggagcgc agacgccccc gcgtaccagc agggccagaa ccagctctat 840
aacgagctca atctaggacg aagagaggag tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg 900
gaccctgaga tggggggaaa gccgagaagg aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa 960
ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg 1020
aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac 1080
gacgcccttc acatgcaggc cctgcccccc cgctaa 1116

<210> 285
<211> 1089
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 285

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgcggtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttc accatggggt ggttccatca ggctccaggg 180
aaggagcgtg agtttgtagc agctattagt ttgagtccta ctttagcata ttatgcagag 240
tccgtgaagg gccgattcac catcagccga gacaacgcca agaacacggt ggttttgcaa 300
atgaacagcc tgaaacctga ggacacggcc ctttattact gtgcagcatc caaggatagа 360
tattcggaat atgagtactg gggccagggg acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc 420
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 480
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag gggggctggac 540
ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc ttggccgggа cttgtggggt ccttctcctg 600
tcactggtta tcacccttta ctgcaaacgg ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa 660
caaccattta tgagaccagt acaaactact caagaggaag atggctgtag ctgccgattt 720
ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc 780
cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc tatаacgagc tcaatctagg acgaagagag 840
gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga 900
aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc 960
tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 1020
cagggtctca gtacagccac caaggacacc tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc 1080
cctcgctaa 1089

<210> 286
<211> 1083
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 286

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttc accatgggat ggttccgtca ggctccaggg 180
aaggagcgtg agtttgtagc agctattagt ttgagtccta ctttagcata ttatgcagag 240
tccgtgaagg gccgattcac catcagccga gacaacgcca agaacacggt ggttttgcaa 300
atgaacagcc tgaaacctga ggacacggcc ctttattact gtgcaaaaaa aaacgggggg 360
cctgtggact actggggcaa agggacccag gtcaccgtct cctcaactag taccacgacg 420
ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc accatcgcgt cgcagccctt gtccctgcgc 480
ccagaggcgt gccggccagc ggcgggggga gcagtgcaca cgaggggggt ggacttcgcc 540
tgtgatatct acatctgggc gccctttggcc gggacttgtg gggtccttct cctgtcactg 600
gttatcaccc tttactgcaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 660
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 720
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg 780
taccagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 840
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 900
aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 960
gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1020
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1080
taa                                                               1083
```

<210> 287
<211> 1098
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 287

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgatgtgc agctggtgga gtctgggggg ggcttggtgc agcctggggg gtctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acggaccttc agtagcattg tcatgggctg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagga gcgattatgt ggaatgatgg tattacatac 240
ttgcaagact ccgtgaaggg ccgatttacc atcttcagag acaacgccaa gaacacggtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacttgag gatacggccg tttattactg tgcagcatcc 360
aagggtagat actcggaata tgagtactgg ggccaggggа cccaggtcac cgtctcctca 420
actagtacca cgacgccagc gccgcgacca ccaacaccgg cgcccaccat cgcgtcgcag 480
ccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgccgg ccagcggcgg ggggcgcagt gcacacgagg 540
gggctggact tcgcctgtga tatctacatc tgggcgccct tggccgggac ttgtggggtc 600
cttctcctgt cactggttat caccctttac tgcaaacggg gcagaaagaa actcctgtat 660
atattcaaac aaccatttat gagaccagta caaactactc aagaggaaga tggctgtagc 720
tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga tgtgaactga gagtgaagtt cagcaggagc 780
gcagacgccc ccgcgtacca gcagggccag aaccagctct ataacgagct caatctagga 840
cgaagagagg agtacgatgt tttggacaag agacgtggcc gggaccctga gatgggggga 900
aagccgagaa ggaagaaccc tcaggaaggc ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg 960
gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa ggcgagcgcc ggaggggcaa ggggcacgat 1020
ggcctttacc agggtctcag tacagccacc aaggacacct acgacgccct tcacatgcag 1080
gccctgcccc ctcgctaa                                               1098
```

<210> 288
<211> 1095
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 288

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga atctgggggа agattggtgc aggctggggg ctctctgaaa 120
ctctcctggg cagcctctgg acgcaccttc accatggggt ggttccgtca ggctccaggg 180
aaggaacgtg agtttgtaac agctattaat ttgagtccta ctttaacata ttatgcagaa 240
tccgtgaagg gccgattccc catcagccga aacaacgccc agaacacggt ggttttgcaa 300
atgaacagcc tgaaaacctga ggacacggcc ctttattact gtgcagcaga acggaaatca 360
gtaatggcta ttccgccccga ctactggggc caggggaccc aggtcaccgt ctcctcaact 420
agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 480
ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca cacgagggag 540
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 600
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacgggggca gaaagaaact cctgtatata 660
ttcaaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 720
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 780
gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 840
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 900
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 960
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1020
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacaccctacg acgcccttca catgcaggcc 1080
ctgccccctc gctaa 1095
```

<210> 289
<211> 1095
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 289

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgaggtgc agctggtgga gtctgggggа ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttc accatggggg ggttccgtcg ggttcctcgg 180
gatgagcggg agtttgtagc atctattact ttgattccta cttttcctta ttatgcatat 240
tccgtgaagg gccgattcgc cctcttccga gacaacccca acaacaccgt gattttgctg 300
atgatcagcc tgaaacctga ggacccggac ctttattact gtgcttcata ccggaaatac 360
ctaatgtcta ttctgccccga ctactggggc caggggaccc agggcaccgt ctcctccact 420
agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccacoatcgc gtcgcagccc 480
ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca cacgagggag 540
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 600
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacgggggca gaaagaaact cctgtatata 660
ttcaaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 720
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 780
gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 840
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 900
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 960
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1020
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacaccctacg acgcccttca catgcaggcc 1080
ctgccccctc gctaa 1095
```

<210> 290
<211> 1113
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 290

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttc accatggggt ggttccgtca ggctccaggg 180
aaggagcgtg agtttgtagc agctattagt ttgagtccta ctttagcata ttatgcagag 240
tccgtgaagg gccgattcac catcagccga gacaacgcca agaacacggt ggatctgcaa 300
atgaacagcc tgaaacctga ggacacggcc gtctatttct gtgcagcaaa tcggaactcc 360
caacgggtaa ttgcggcact gtcctggatt ggcatgaact actgggggcga atggacccag 420
gtcaccgtct cctccactag taccacgacg ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc 480
accatcgcgt cgcagcccct gtccctgcgc ccagaggcgt gccggccagc ggcgggggga 540
gcagtgcaca cgaggggact ggacttcgcc tgtgatatct acatctgggc gcccttggcc 600
ggggacttgtg gggtccttct cctgtcactg gttatcaccc tttactgcaa acggggcaga 660
aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca tttatgagac cagtacaaac tactcaagag 720
gaagatggct gtagctgccg atttccagaa gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg 780
aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg taccagcagg gccagaacca gctctataac 840
gagctcaatc taggacgaag agaggagtac gatgttttgg acaagagacg tggccgggac 900
cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg 960
cagaaagata agatggcgga ggcctacagt gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg 1020
ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac 1080
gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc taa                              1113
```

<210> 291
<211> 1089
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 291

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttc accatggggt ggttccgtca ggctccaggg 180
aaggagcgtg agtttgtagc agctattagt ttgagtccta ctttagcata ttatgcagag 240
tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gacaacgcca agaagacgct gtatctgcga 300
atgaatagcc tgaaacctga ggacacggcc gtttactact gtgcagcacg tcggatcgac 360
gcagctgact ttgattcctg ggggcagggg accccaggtca ccgtctcctc aactagtacc 420
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 480
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg ggggcgcgcag tgcacacgag ggggctggac 540
ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc ttggccggga cttgtgggct ccttctcctg 600
tcactggtta tcacccttta ctgcaaacgg ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa 660
caaccattta tgagaccagt acaaactact caagaggaag atggctgtag ctgccgattt 720
ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc 780
cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag 840
gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga 900
aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc 960
tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 1020
cagggtctca gtacagccac caaggacacc tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc 1080
cctcgctaa                                                        1089
```

<210> 292
<211> 1089
<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 292

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttc accatgggat ggttccgtcg ggctccaggg 180
aagggagcgtg agtctgttgc agttattggc tggagagata ttaacgcaag ctatgcagac 240
tccgtgaagg gccgattcgc catctccaga gacaacgcca agaagacgct gtatctgcag 300
atgaatagcc tgaaacctga ggacacggcc gtttactact gtgcagcacg tcggatcgac 360
gcaactgact ttgattcctg ggggcagggg acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc 420
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gccctgtccc 480
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag gggctggac 540
ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc ttggccggga cttgtgggt cctctcctg 600
tcactggtta tcacccttta ctgcaaacgg ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa 660
caaccattta tgagaccagt acaaactact caagaggaag atggctgtag ctgccgattt 720
ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc 780
cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag 840
gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga 900
aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc 960
tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 1020
cagggtctca gtacagccac caaggacacc tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc 1080
cctcgctaa 1089

<210> 293
<211> 1098
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 293

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga gtctgggggg ggattggtgc agactggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctga acacaccttc agtaaccatg tcatgggctg gttccgccag 180
gctccagggg aggagcgtga gtctgttgca gttattggct ggagagatat tagcacaagc 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaagacgctg 300
tatctgcaaa tgaatagcct gaaacctgag gacacggccg tttactactg tgcagcacgt 360
cggatcgacg cagctgactt tgattcccgg gggcaggggg cccaggtcac cgtctcctca 420
actagtacca cgacgccagc gccgcgacca ccaacaccgg cgcccaccat cgcgtcgcag 480
ccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgccgg ccagcggcgg ggggcgcagt gcacacgagg 540
gggctggact tcgcctgtga tatctacatc tgggcgccct tggccgggac ttgtgggggtc 600
cttctcctgt cactggttat caccctttac tgcaaacggg gcagaaagaa actcctgtat 660
atattcaaac aaccatttat gagaccagta caaactactc aagaggaaga tggctgtagc 720
tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga tgtgaactga gagtgaagtt cagcaggagc 780
gcagacgccc ccgcgtacca gcagggccag aaccagctct ataacgagct caatctagga 840
cgaagagagg agtacgatgt tttggacaag agacgtggcc gggaccctga gatgggggga 900
aagccgagaa ggaagaaccc tcaggaaggc ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg 960
gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa ggcgagcgcc ggaggggcaa ggggcacgat 1020
ggcctttacc agggtctcag tacagccacc aaggacacct acgacgcccc tcacatgcag 1080
gccctgcccc ctcgctaa 1098

<210> 294

<211> 1110
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 294

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgccgtgc agctggtgga ttctgggggа ggattggtgc aggctgggag ctctctgaga 120
atttcctgtg cagtctctgg acgcacctcc agtaactata ttttggcctg gttccgtcag 180
gctccaggaa aagagcgtga ctttgtagca catattagcc ggagtggtgg taagtccggc 240
tatggagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccga gaacacggtc 300
agggtgtatc tgcaaatgaa cagtctgaaa cctggggaca cggccgtcta ttactgtaat 360
cgcccccctct ggtacggaag tcccacgttg attgactact ggggccaggg gacccaggtc 420
accgtctcct caactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 480
atcgcgtcgc agccccctgc cctgcgccca gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca 540
gtgcacacga ggggctgga cttcgcctgt gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg 600
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcaccctttt actgcaaacg gggcagaaag 660
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 720
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 780
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 840
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 900
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 960
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1020
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1080
cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa 1110

<210> 295
<211> 1095
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 295

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgcggtgc agctggtgga gtctgggggа ggcttggtgc agcctgggagg gtctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttc accatgggat ggttccgtca ggctccaggg 180
aaggagcgtg agtttgtagc agctattagt ttgagtccta ctttagcata ttatgcagag 240
tccgtgaagg gccgattcac catcagccga gacaacgcca agaacacggt ggttttgcaa 300
atgaacagcc tgaaacctga ggacacggcc ctttattact gtgcagcaga ccggaaatca 360
gtaatgtcta ttcggcccga ctactgggac cagggaccc aggtcaccgt ctcctcaact 420
agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 480
ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca cacgagggag 540
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgccccttgg ccgggacttg tggggtcctt 600
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacgggggca gaaagaaact cctgtatata 660
ttcaaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 720
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 780
gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 840
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 900
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 960
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1020
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1080
ctgccccctc gctaa 1095

<210> 296
<211> 1095
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 296

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgcggtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg acgcaccttc accatgggct ggttccgtca ggctccaggg 180
aaggagcgtg agtttgtagc agctattagt ttgagtccta ctttagcata ttatgcagag 240
tccgtgaagg gccgattcac catcagccga gacaacgcca agaacacggt ggttttgcaa 300
atgaacagcc tgaaacctga ggacacggcc ctttattact gtgcagcaga ccggaaatca 360
gtaatgtcta ttcggcccga ctactggggc cagggaaccc aggtcaccgt ctcctcaact 420
agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 480
ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca cacgagggag 540
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 600
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacgggggca gaaagaaact cctgtatata 660
ttcaaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 720
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 780
gacgcccccg cgtaccagca ggccagaaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 840
agaggagagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 900
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 960
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1020
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1080
ctgccccctc gctaa 1095

<210> 297
<211> 1104
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 297

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgatgtgc agctggtgga gtctgggggg ggatcggtgc agactggggg ctctctgaga 120
ctctcctgta cagcctctgg acgcaccctc aatagctttg tcatgggctg gttccgtcag 180
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagca gctattagtt tgagtcctac tttagcatat 240
tatgtagagt ccgtgaaggg ccgattcacc atcagccgag acaacgccaa gaacacggtg 300
gttttgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gacacggccc tttattactg tgcagcagac 360
cggaaatcag taatgtctat tcggcccgac tactggggcc aggggaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa cacccggcgcc caccatcgcg 480
tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 540
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt 600
ggggtccttc tcctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacgggggcag aaagaaactc 660
ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 720
tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc 780
aggagcgcag acgcccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 840
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccgga ccctgagatg 900
ggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 960
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg 1020
cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1080
atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1104

<210> 298
<211> 495
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 298

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
35 40 45
Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
115 120 125
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145 150 155 160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr
165 170 175
Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
180 185 190
Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr
195 200 205
Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
210 215 220
Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240

```
Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp
                245                 250                 255
Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser
            260                 265                 270
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
        275                 280                 285
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
    290                 295                 300
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
305                 310                 315                 320
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
                325                 330                 335
Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
            340                 345                 350
Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
        355                 360                 365
Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
    370                 375                 380
Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
385                 390                 395                 400
Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
                405                 410                 415
Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
            420                 425                 430
Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
        435                 440                 445
Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
    450                 455                 460
Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
465                 470                 475                 480
Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485                 490                 495
```

<210> 299
<211> 622
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 299

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe
35 40 45
Thr Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg
115 120 125
Asp Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
145 150 155 160
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr
165 170 175
Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
180 185 190
Arg Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr
195 200 205
Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
210 215 220
Lys Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
225 230 235 240
Ala Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp
245 250 255
Tyr Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
260 265 270
Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
275 280 285
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Leu
290 295 300
Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
305 310 315 320
Glu Gly Val Ile Cys Ile Ser Arg Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala
325 330 335
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys
340 345 350
Thr Val Tyr Leu Gln Met Ile Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala
355 360 365
Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Asp Cys Ser Gly Tyr Leu Arg Asp Tyr
370 375 380

```
Glu Phe Arg Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
385                 390                 395                 400
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
                405                 410                 415
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
            420                 425                 430
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
        435                 440                 445
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
    450                 455                 460
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
465                 470                 475                 480
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
                485                 490                 495
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
            500                 505                 510
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
        515                 520                 525
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
    530                 535                 540
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
545                 550                 555                 560
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
                565                 570                 575
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
            580                 585                 590
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
        595                 600                 605
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
    610                 615                 620
```

<210> 300
<211> 488
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 300

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
35 40 45
Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
115 120 125
Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly
145 150 155 160
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met
165 170 175
Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala
180 185 190
Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly
195 200 205
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln
210 215 220
Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala
225 230 235 240
Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
245 250 255
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
260 265 270
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
275 280 285
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
290 295 300
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
305 310 315 320
Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
325 330 335
Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
340 345 350
Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
355 360 365
Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
370 375 380
Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
385 390 395 400
Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
405 410 415
Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
420 425 430
Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
435 440 445
Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly

```
    450                 455                 460
Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
465                 470                 475                 480
His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485
```

<210> 301
<211> 498
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 301

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
        35                  40                  45
Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
        115                 120                 125
Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
    130                 135                 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
145                 150                 155                 160
Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175
Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190
Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr
        195                 200                 205
```

```
Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
    210                 215                 220
Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
225                 230                 235                 240
Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met
                245                 250                 255
Ser Ile Arg Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
            260                 265                 270
Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro
        275                 280                 285
Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro
    290                 295                 300
Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
305                 310                 315                 320
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
                325                 330                 335
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
            340                 345                 350
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
        355                 360                 365
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
    370                 375                 380
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
385                 390                 395                 400
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
                405                 410                 415
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
            420                 425                 430
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
        435                 440                 445
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
    450                 455                 460
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
465                 470                 475                 480
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
                485                 490                 495
Pro Arg
```

<210> 302
<211> 508
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 302

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
35 40 45
Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
115 120 125
Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
180 185 190
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
195 200 205
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
210 215 220
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
225 230 235 240
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
245 250 255
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
260 265 270
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr

```
          275                 280                 285
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
    290                 295                 300
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
305                 310                 315                 320
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
                325                 330                 335
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
            340                 345                 350
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
        355                 360                 365
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
    370                 375                 380
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
385                 390                 395                 400
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
                405                 410                 415
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
            420                 425                 430
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
        435                 440                 445
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
    450                 455                 460
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
465                 470                 475                 480
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
                485                 490                 495
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500                 505
```

<210> 303
<211> 493
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 303

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
50 55 60
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
65 70 75 80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
85 90 95
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
100 105 110
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
115 120 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
145 150 155 160
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
165 170 175
Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
180 185 190
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
195 200 205
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
210 215 220
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
225 230 235 240
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
245 250 255
Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr
260 265 270
Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
275 280 285
Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
290 295 300
Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
305 310 315 320
Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
325 330 335
Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
340 345 350
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
355 360 365
Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
370 375 380

```
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
385                 390                 395                 400
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
                405                 410                 415
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
            420                 425                 430
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
        435                 440                 445
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
    450                 455                 460
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
465                 470                 475                 480
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485                 490
```

<210> 304
<211> 498
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 304

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

```
                100                 105                 110
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
            115                 120                 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        130                 135                 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Lys Leu Glu Glu
145                 150                 155                 160
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
                165                 170                 175
Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg
            180                 185                 190
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg
        195                 200                 205
Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240
Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp
                245                 250                 255
Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
            260                 265                 270
Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro
        275                 280                 285
Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro
    290                 295                 300
Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
305                 310                 315                 320
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
                325                 330                 335
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
            340                 345                 350
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
        355                 360                 365
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
    370                 375                 380
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
385                 390                 395                 400
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
                405                 410                 415
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
            420                 425                 430
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
        435                 440                 445
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
    450                 455                 460
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
465                 470                 475                 480
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
                485                 490                 495
Pro Arg
```

<210> 305
<211> 503
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 305

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
    50                  55                  60
Phe Val Ala Ala Ile Ser Leu Ser Pro Thr Leu Ala Tyr Tyr Ala Glu
65                  70                  75                  80
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
                85                  90                  95
Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr
            100                 105                 110
Tyr Cys Ala Ala Asp Arg Lys Ser Val Met Ser Ile Arg Pro Asp Tyr
        115                 120                 125
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
145                 150                 155                 160
Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser
                165                 170                 175
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val
            180                 185                 190
Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala
        195                 200                 205
Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
    210                 215                 220
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu
225                 230                 235                 240
Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                245                 250                 255
Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
            260                 265                 270
Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
        275                 280                 285
Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
    290                 295                 300
Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
305                 310                 315                 320
Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
                325                 330                 335
Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
            340                 345                 350
Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
        355                 360                 365
```

```
                ...
Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
    370                 375                 380
Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
385                 390                 395                 400
Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
                405                 410                 415
Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
            420                 425                 430
Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
        435                 440                 445
Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
    450                 455                 460
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
465                 470                 475                 480
Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
                485                 490                 495
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500
```

<210> 306
<211> 489
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 306

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
        35                  40                  45
Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
        115                 120                 125
Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
    130                 135                 140
Ser Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly
145                 150                 155                 160
Asp Ser Leu Arg Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Arg Ala Phe Ser Thr
                165                 170                 175
```

```
Tyr Phe Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe
            180                 185                 190
Val Ala Gly Ile Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser
        195                 200                 205
Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
    210                 215                 220
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
225                 230                 235                 240
Cys Ala Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala Trp Gly Gln
                245                 250                 255
Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro
            260                 265                 270
Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu
        275                 280                 285
Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg
    290                 295                 300
Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly
305                 310                 315                 320
Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys
                325                 330                 335
Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg
            340                 345                 350
Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
        355                 360                 365
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
    370                 375                 380
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
385                 390                 395                 400
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
                405                 410                 415
Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
            420                 425                 430
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
        435                 440                 445
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
    450                 455                 460
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
465                 470                 475                 480
Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485
```

<210> 307
<211> 499
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 307

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
35 40 45
Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
115 120 125
Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Val Gln Leu Val
145 150 155 160
Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Thr
165 170 175
Cys Thr Ala Ser Gly Arg Ala Phe Ser Thr Tyr Phe Met Ala Trp Phe
180 185 190
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Ile Ala Trp
195 200 205
Ser Gly Gly Ser Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
210 215 220
Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser
225 230 235 240
Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Arg Gly Ile
245 250 255
Glu Val Glu Glu Phe Gly Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
260 265 270
Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
275 280 285
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
290 295 300
Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
305 310 315 320
Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
325 330 335
Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu

340 345 350

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
355 360 365

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
370 375 380

Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
385 390 395 400

Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
405 410 415

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
420 425 430

Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
435 440 445

Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
450 455 460

Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
465 470 475 480

Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
485 490 495

Pro Pro Arg

<210> 308
<211> 509
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 308

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30

Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His
35 40 45

Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60

Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95

Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp
115 120 125

Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

```
Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Arg
            180                 185                 190
Ala Phe Ser Thr Tyr Phe Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
        195                 200                 205
Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Ile Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala
    210                 215                 220
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
225                 230                 235                 240
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr
                245                 250                 255
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly
            260                 265                 270
Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr
        275                 280                 285
Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln
    290                 295                 300
Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala
305                 310                 315                 320
Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala
                325                 330                 335
Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr
            340                 345                 350
Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln
        355                 360                 365
Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser
    370                 375                 380
Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys
385                 390                 395                 400
Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln
                405                 410                 415
Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu
            420                 425                 430
Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg
        435                 440                 445
Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met
    450                 455                 460
Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly
465                 470                 475                 480
Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp
                485                 490                 495
Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500                 505
```

<210> 309
<211> 494
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 309

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Arg
35 40 45
Ala Phe Ser Thr Tyr Phe Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Ile Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly
115 120 125
Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly
145 150 155 160
Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu
165 170 175
His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
180 185 190
Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr
195 200 205
Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
210 215 220
Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
225 230 235 240
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe
245 250 255
Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
260 265 270
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
275 280 285
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
290 295 300
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
305 310 315 320
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
325 330 335
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
340 345 350
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
355 360 365
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
370 375 380

```
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
385                 390                 395                 400
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
                405                 410                 415
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
            420                 425                 430
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
        435                 440                 445
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
    450                 455                 460
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
465                 470                 475                 480
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485                 490
```

<210> 310
<211> 499
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 310

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

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly
115 120 125
Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu
145 150 155 160
Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser
165 170 175
Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His Val Met Gly Trp Phe
180 185 190
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala Val Ile Gly Trp
195 200 205
Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
210 215 220
Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
225 230 235 240
Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Arg Arg Ile
245 250 255
Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
260 265 270
Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
275 280 285
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
290 295 300
Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
305 310 315 320
Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
325 330 335
Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
340 345 350
Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
355 360 365
Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
370 375 380
Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
385 390 395 400
Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
405 410 415
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
420 425 430
Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
435 440 445
Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
450 455 460
Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
465 470 475 480
Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
485 490 495
Pro Pro Arg

<210> 311
<211> 504
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 311

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Ala Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Ala Phe Ser Thr Tyr Phe Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Gly Ile Ala Trp Ser Gly Gly Ser Thr Ala
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Arg Gly Ile Glu Val Glu Glu Phe Gly
        115                 120                 125
Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
    130                 135                 140
Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145                 150                 155                 160
Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Arg
                165                 170                 175
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu His Thr Phe Ser Ser His
            180                 185                 190
Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val
        195                 200                 205
Ala Val Ile Gly Trp Arg Asp Ile Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
    210                 215                 220
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Leu Tyr
225                 230                 235                 240
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                245                 250                 255
Ala Ala Arg Arg Ile Asp Ala Ala Asp Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly
            260                 265                 270
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
        275                 280                 285
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
    290                 295                 300
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
305                 310                 315                 320
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
                325                 330                 335
Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
            340                 345                 350
Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
        355                 360                 365
```

```
Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
    370                 375                 380
Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
385                 390                 395                 400
Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
                405                 410                 415
Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
            420                 425                 430
Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
        435                 440                 445
Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
    450                 455                 460
Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
465                 470                 475                 480
Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
                485                 490                 495
His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500
```

<210> 312
<211> 498
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 312

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Gln Ser Thr Tyr
        35                  40                  45
Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu
        115                 120                 125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
    130                 135                 140
Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Gln Pro Arg
145                 150                 155                 160
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr
                165                 170                 175
Tyr Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe
            180                 185                 190
```

```
Val Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala
            195                 200                 205
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Asn Ala Lys Asn
        210                 215                 220
Met Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
225                 230                 235                 240
Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp
                245                 250                 255
Ala Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
            260                 265                 270
Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro
        275                 280                 285
Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro
    290                 295                 300
Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
305                 310                 315                 320
Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu
                325                 330                 335
Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu
            340                 345                 350
Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu
        355                 360                 365
Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys
    370                 375                 380
Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
385                 390                 395                 400
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
                405                 410                 415
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
            420                 425                 430
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
        435                 440                 445
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
    450                 455                 460
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
465                 470                 475                 480
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
                485                 490                 495
Pro Arg
```

<210> 313
<211> 508
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 313

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met
20 25 30
Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Gln Ser Thr Tyr
35 40 45
Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu
115 120 125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu
145 150 155 160
Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg Leu Ser
165 170 175
Cys Ala Gly Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala Trp Phe
180 185 190
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys Ala Ser
195 200 205
Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
210 215 220
Phe Thr Ile Ala Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu Gln Met
225 230 235 240
Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
245 250 255
Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile Asp Tyr
260 265 270
Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
275 280 285
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
290 295 300
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val

305				310					315						320
His	Thr	Arg	Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro
				325					330					335	
Leu	Ala	Gly	Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu
			340					345					350		
Tyr	Cys	Lys	Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro
		355					360					365			
Phe	Met	Arg	Pro	Val	Gln	Thr	Thr	Gln	Glu	Glu	Asp	Gly	Cys	Ser	Cys
	370					375					380				
Arg	Phe	Pro	Glu	Glu	Glu	Glu	Gly	Gly	Cys	Glu	Leu	Arg	Val	Lys	Phe
385					390					395					400
Ser	Arg	Ser	Ala	Asp	Ala	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gln	Gly	Gln	Asn	Gln	Leu
				405					410					415	
Tyr	Asn	Glu	Leu	Asn	Leu	Gly	Arg	Arg	Glu	Glu	Tyr	Asp	Val	Leu	Asp
			420					425					430		
Lys	Arg	Arg	Gly	Arg	Asp	Pro	Glu	Met	Gly	Gly	Lys	Pro	Arg	Arg	Lys
		435					440					445			
Asn	Pro	Gln	Glu	Gly	Leu	Tyr	Asn	Glu	Leu	Gln	Lys	Asp	Lys	Met	Ala
	450					455					460				
Glu	Ala	Tyr	Ser	Glu	Ile	Gly	Met	Lys	Gly	Glu	Arg	Arg	Arg	Gly	Lys
465					470					475					480
Gly	His	Asp	Gly	Leu	Tyr	Gln	Gly	Leu	Ser	Thr	Ala	Thr	Lys	Asp	Thr
				485					490					495	
Tyr	Asp	Ala	Leu	His	Met	Gln	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg				
			500					505							

<210> 314
<211> 518
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 314

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met
20 25 30
Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Gln Ser Thr Tyr
35 40 45
Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu
115 120 125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu
165 170 175
Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg
180 185 190
Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
195 200 205
Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg
210 215 220
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp
225 230 235 240
Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu
245 250 255
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr
260 265 270
Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu
275 280 285
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
290 295 300
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
305 310 315 320
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
325 330 335
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
340 345 350
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
355 360 365
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
370 375 380
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
385 390 395 400
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
405 410 415

Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
420 425 430
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
435 440 445
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
450 455 460
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
465 470 475 480
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
485 490 495
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
500 505 510
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
515

<210> 315
<211> 503
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 315

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

100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu
115 120 125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg
145 150 155 160
Leu Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly
165 170 175
Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
180 185 190
Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly
195 200 205
Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg
210 215 220
Asp Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro
225 230 235 240
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr
245 250 255
Tyr Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr
260 265 270
Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro
275 280 285
Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro
290 295 300
Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu
305 310 315 320
Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys
325 330 335
Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly
340 345 350
Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val
355 360 365
Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu
370 375 380
Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp
385 390 395 400
Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
405 410 415
Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
420 425 430
Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
435 440 445
Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
450 455 460
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
465 470 475 480
Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
485 490 495
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500

<210> 316
<211> 508
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 316

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Gln Ser Thr Tyr
        35                  40                  45
Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu
        115                 120                 125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
    130                 135                 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu
145                 150                 155                 160
Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175
Cys Ala Gly Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala Trp Phe
            180                 185                 190
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys Ala Ser
        195                 200                 205
Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
    210                 215                 220
Phe Thr Ile Ala Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu Gln Met
225                 230                 235                 240
Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
                245                 250                 255
Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile Asp Tyr
            260                 265                 270
Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
        275                 280                 285
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
    290                 295                 300
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
305                 310                 315                 320
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
                325                 330                 335
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
            340                 345                 350
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
        355                 360                 365
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
    370                 375                 380
```

Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
385 390 395 400
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
405 410 415
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
420 425 430
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
435 440 445
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
450 455 460
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
465 470 475 480
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
485 490 495
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500 505

<210> 317
<211> 513
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 317

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Met
20 25 30
Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Gln Ser Thr Tyr
35 40 45
Thr Val Asn Ser Asp Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Phe Val Gly Ala Ile Met Trp Asn Asp Gly Ile Thr Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Phe Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Lys Gly Arg Tyr Ser Glu Tyr Glu
115 120 125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160
Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Gln Pro Arg Gly
165 170 175
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Tyr
180 185 190

```
Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
            195                 200                 205
Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp
        210                 215                 220
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp Asn Ala Lys Asn Met
225                 230                 235                 240
Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                245                 250                 255
Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr Gly Cys Phe Asp Ala
            260                 265                 270
Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        275                 280                 285
Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr
    290                 295                 300
Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala
305                 310                 315                 320
Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile
                325                 330                 335
Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser
            340                 345                 350
Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
        355                 360                 365
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
    370                 375                 380
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
385                 390                 395                 400
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
                405                 410                 415
 Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
            420                 425                 430
 Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
        435                 440                 445
 Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
    450                 455                 460
 Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
465                 470                 475                 480
 Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
                485                 490                 495
 Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
            500                 505                 510
 Arg
```

<210> 318
<211> 500
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 318

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu
20 25 30
Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg
65 70 75 80
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp
85 90 95
Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu
100 105 110
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr
115 120 125
Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu
130 135 140
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu
145 150 155 160
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
165 170 175
Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg
180 185 190
Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp
195 200 205
Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asn Ser Val Asn Gly Arg Phe Pro Ile
210 215 220
Asn Arg Asn Asn Ala Glu Asn Leu Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240
Lys Pro Asp Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Arg Lys Ser
245 250 255
Ile Met Ser Ile Gln Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
260 265 270
Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro
275 280 285
Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys
290 295 300
Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala

```
305                 310                 315                 320
Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu
                325                 330                 335
Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys
            340                 345                 350
Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr
        355                 360                 365
Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly
    370                 375                 380
Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala
385                 390                 395                 400
Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg
                405                 410                 415
Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu
            420                 425                 430
Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
        435                 440                 445
Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
    450                 455                 460
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
465                 470                 475                 480
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
                485                 490                 495
Leu Pro Pro Arg
            500
```

<210> 319
<211> 510
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 319

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu
            20                  25                  30
Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg
65                  70                  75                  80
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp
                85                  90                  95
Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu
            100                 105                 110
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr
        115                 120                 125
Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu
    130                 135                 140
```

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160
Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
165 170 175
Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr
180 185 190
Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
195 200 205
Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr
210 215 220
Ala Asn Ser Val Asn Gly Arg Phe Pro Ile Asn Arg Asn Asn Ala Glu
225 230 235 240
Asn Leu Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala
245 250 255
Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Arg Lys Ser Ile Met Ser Ile Gln Pro
260 265 270
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
275 280 285
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
290 295 300
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
305 310 315 320
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
325 330 335
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
340 345 350
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
355 360 365
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
370 375 380
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
385 390 395 400
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
405 410 415
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
420 425 430
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
435 440 445
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
450 455 460
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
465 470 475 480
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
485 490 495
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500 505 510

<210> 320
<211> 520
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 320

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu
20 25 30
Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg
65 70 75 80
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp
85 90 95
Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu
100 105 110
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr
115 120 125
Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu
130 135 140
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
165 170 175
Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu
180 185 190
Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val
195 200 205
Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser
210 215 220
Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asn Ser Val Asn Gly
225 230 235 240
Arg Phe Pro Ile Asn Arg Asn Asn Ala Glu Asn Leu Val Val Leu Gln
245 250 255
Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala
260 265 270
Tyr Arg Lys Ser Ile Met Ser Ile Gln Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
275 280 285
Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg
290 295 300

```
Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg
305                 310                 315                 320
Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly
                325                 330                 335
Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr
            340                 345                 350
Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg
        355                 360                 365
Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
    370                 375                 380
Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
385                 390                 395                 400
Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala
                405                 410                 415
Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu
            420                 425                 430
Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly
        435                 440                 445
Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu
    450                 455                 460
Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser
465                 470                 475                 480
Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly
                485                 490                 495
Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu
            500                 505                 510
His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
        515                 520
```

<210> 321
<211> 505
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 321

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
```

1			5				10				15	
His	Ala	Ala	Arg	Pro	Gln	Val	Lys	Leu	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Arg	Leu
			20					25					30		
Val	Gln	Pro	Arg	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Gly	Ser	Gly	Arg
		35					40					45			
Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	Gly	Met	Ala	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys
	50					55					60				
Glu	Arg	Glu	Phe	Val	Ala	Ser	Lys	Ala	Ser	Met	Asn	Tyr	Ser	Gly	Arg
65					70					75					80
Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ala	Arg	Asp
				85					90					95	
Asn	Ala	Lys	Asn	Met	Val	Phe	Leu	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Pro	Glu
			100					105					110		
Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Gly	Thr	Gly	Cys	Ser	Thr	Tyr
		115					120					125			
Gly	Cys	Phe	Asp	Ala	Gln	Ile	Ile	Asp	Tyr	Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Leu
	130					135					140				
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln
145					150					155					160
Val	Lys	Leu	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Ala	Gly	Gly	Ser
				165					170					175	
Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Leu	Ser	Lys	Asn	Thr
			180					185					190		
Val	Ala	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Gly	Phe	Val	Thr
		195					200					205			
Ser	Ile	Thr	Cys	Asp	Gly	Arg	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Ser	Val	Asn
	210					215					220				
Gly	Arg	Phe	Pro	Ile	Asn	Arg	Asn	Asn	Ala	Glu	Asn	Leu	Val	Val	Leu
225					230					235					240
Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Asp	Asp	Thr	Ala	Leu	Tyr	Tyr	Cys	Ala
				245					250					255	
Ala	Tyr	Arg	Lys	Ser	Ile	Met	Ser	Ile	Gln	Pro	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln
			260					265					270		
Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Pro	Ala	Pro
		275					280					285			
Arg	Pro	Pro	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Ile	Ala	Ser	Gln	Pro	Leu	Ser	Leu
	290					295					300				
Arg	Pro	Glu	Ala	Cys	Arg	Pro	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Val	His	Thr	Arg
305					310					315					320
Gly	Leu	Asp	Phe	Ala	Cys	Asp	Ile	Tyr	Ile	Trp	Ala	Pro	Leu	Ala	Gly
				325					330					335	
Thr	Cys	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Thr	Leu	Tyr	Cys	Lys
			340					345					350		
Arg	Gly	Arg	Lys	Lys	Leu	Leu	Tyr	Ile	Phe	Lys	Gln	Pro	Phe	Met	Arg
		355					360					365			

```
Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro
    370                 375                 380
Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser
385                 390                 395                 400
Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu
                405                 410                 415
Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg
            420                 425                 430
Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln
        435                 440                 445
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
    450                 455                 460
Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp
465                 470                 475                 480
Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala
                485                 490                 495
Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500                 505
```

<210> 322
<211> 510
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 322

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu
            20                  25                  30
Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg
        35                  40                  45
Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg
65                  70                  75                  80
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp
                85                  90                  95
Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu
            100                 105                 110
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr
        115                 120                 125
Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu
    130                 135                 140
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145                 150                 155                 160
Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
                165                 170                 175
Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr
            180                 185                 190
Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
        195                 200                 205
```

Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr
210 215 220
Ala Asn Ser Val Asn Gly Arg Phe Pro Ile Asn Arg Asn Asn Ala Glu
225 230 235 240
Asn Leu Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala
245 250 255
Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Arg Lys Ser Ile Met Ser Ile Gln Pro
260 265 270
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr
275 280 285
Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser
290 295 300
Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly
305 310 315 320
Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp
325 330 335
Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile
340 345 350
Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
355 360 365
Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
370 375 380
Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
385 390 395 400
Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
405 410 415
Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
420 425 430
Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
435 440 445
Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
450 455 460
Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
465 470 475 480
Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
485 490 495
Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500 505 510

<210> 323
<211> 515
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 323

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Arg Leu
20 25 30
Val Gln Pro Arg Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Arg
35 40 45
Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Lys Ala Ser Met Asn Tyr Ser Gly Arg
65 70 75 80
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ala Arg Asp
85 90 95
Asn Ala Lys Asn Met Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu
100 105 110
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Cys Ser Thr Tyr
115 120 125
Gly Cys Phe Asp Ala Gln Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu
130 135 140
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser
165 170 175
Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
180 185 190
Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln
195 200 205
Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly
210 215 220
Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asn Ser Val Asn Gly Arg Phe Pro Ile Asn
225 230 235 240
Arg Asn Asn Ala Glu Asn Leu Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
245 250 255
Pro Asp Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Arg Lys Ser Ile
260 265 270
Met Ser Ile Gln Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
275 280 285
Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
290 295 300
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg
305 310 315 320

```
Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
                325                 330                 335
Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu
            340                 345                 350
Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu
        355                 360                 365
Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln
    370                 375                 380
Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly
385                 390                 395                 400
Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
                405                 410                 415
Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
            420                 425                 430
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
        435                 440                 445
Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu
    450                 455                 460
Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys
465                 470                 475                 480
Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu
                485                 490                 495
Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu
            500                 505                 510
Pro Pro Arg
        515
```

<210> 324
<211> 492
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 324

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
35 40 45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asn Ser Val Asn Gly Arg Phe Pro Ile Asn Arg Asn Asn Ala
85 90 95
Glu Asn Leu Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr
100 105 110
Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Arg Lys Ser Ile Met Ser Ile Gln
115 120 125
Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
145 150 155 160
Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu
165 170 175
Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
180 185 190
Gly Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala
195 200 205
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
210 215 220
Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
225 230 235 240
Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr
245 250 255
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr
260 265 270
Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro
275 280 285
Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val
290 295 300
His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
305 310 315 320
Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
325 330 335
Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro
340 345 350
Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys
355 360 365
Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe
370 375 380

```
Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu
385                 390                 395                 400
Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp
                405                 410                 415
Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys
            420                 425                 430
Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala
        435                 440                 445
Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys
    450                 455                 460
Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr
465                 470                 475                 480
Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485                 490
```

<210> 325
<211> 502
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 325

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

```
Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
    130                 135                 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
145                 150                 155                 160
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
                165                 170                 175
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala
            180                 185                 190
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile
        195                 200                 205
Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
    210                 215                 220
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
225                 230                 235                 240
Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu
                245                 250                 255
Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            260                 265                 270
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
        275                 280                 285
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
    290                 295                 300
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
305                 310                 315                 320
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
                325                 330                 335
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
            340                 345                 350
Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
        355                 360                 365
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
    370                 375                 380
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
385                 390                 395                 400
Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
                405                 410                 415
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
            420                 425                 430
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
        435                 440                 445
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
    450                 455                 460
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
465                 470                 475                 480
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
                485                 490                 495
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500
```

<210> 326
<211> 512
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 326

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
35 40 45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asn Ser Val Asn Gly Arg Phe Pro Ile Asn Arg Asn Asn Ala
85 90 95
Glu Asn Leu Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr
100 105 110
Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Arg Lys Ser Ile Met Ser Ile Gln
115 120 125
Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145 150 155 160
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
165 170 175
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
180 185 190
Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro
195 200 205
Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr
210 215 220
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
225 230 235 240
Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
245 250 255
Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly
260 265 270
Pro Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr
275 280 285
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
290 295 300
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
305 310 315 320
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
325 330 335
Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
340 345 350
Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
355 360 365
Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
370 375 380

Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
385 390 395 400
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
405 410 415
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
420 425 430
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
435 440 445
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
450 455 460
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
465 470 475 480
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
485 490 495
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500 505 510

<210> 327
<211> 497
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 327

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
35 40 45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asn Ser Val Asn Gly Arg Phe Pro Ile Asn Arg Asn Asn Ala
85 90 95
Glu Asn Leu Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr
100 105 110
Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Arg Lys Ser Ile Met Ser Ile Gln
115 120 125
Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145 150 155 160
Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
165 170 175

```
Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala
                180                 185                 190
Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg
            195                 200                 205
Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
    210                 215                 220
Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
225                 230                 235                 240
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala
                245                 250                 255
Gly Pro Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr
        275                 280                 285
Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala
    290                 295                 300
Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile
305                 310                 315                 320
Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser
                325                 330                 335
Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr
            340                 345                 350
Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu
        355                 360                 365
Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu
    370                 375                 380
Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln
385                 390                 395                 400
Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu
                405                 410                 415
Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly
            420                 425                 430
Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln
        435                 440                 445
Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu
    450                 455                 460
Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr
465                 470                 475                 480
Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro
                485                 490                 495
Arg
```

<210> 328
<211> 502
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 328

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
35 40 45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asn Ser Val Asn Gly Arg Phe Pro Ile Asn Arg Asn Asn Ala
85 90 95
Glu Asn Leu Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr
100 105 110
Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Arg Lys Ser Ile Met Ser Ile Gln
115 120 125
Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
145 150 155 160
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
165 170 175
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala
180 185 190
Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile
195 200 205
Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
210 215 220
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
225 230 235 240
Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu
245 250 255
Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
260 265 270
Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro
275 280 285
Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu
290 295 300
Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp
305 310 315 320
Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly
325 330 335
Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg
340 345 350

Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln
355 360 365
Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu
370 375 380
Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala
385 390 395 400
Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu
405 410 415
Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp
420 425 430
Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu
435 440 445
Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile
450 455 460
Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr
465 470 475 480
Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met
485 490 495
Gln Ala Leu Pro Pro Arg
500

<210> 329
<211> 507
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 329

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
35 40 45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asn Ser Val Asn Gly Arg Phe Pro Ile Asn Arg Asn Asn Ala
85 90 95
Glu Asn Leu Val Val Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr
100 105 110
Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Tyr Arg Lys Ser Ile Met Ser Ile Gln
115 120 125
Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
130 135 140

```
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145                 150                 155                 160
Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
                165                 170                 175
Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser
            180                 185                 190
Lys Asn Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly
        195                 200                 205
Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp
    210                 215                 220
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
225                 230                 235                 240
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                245                 250                 255
Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala Asp Tyr Trp
            260                 265                 270
Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro
        275                 280                 285
Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
    290                 295                 300
Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
305                 310                 315                 320
Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
                325                 330                 335
Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
            340                 345                 350
Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
        355                 360                 365
Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
    370                 375                 380
Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
385                 390                 395                 400
Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
                405                 410                 415
Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
            420                 425                 430
Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
        435                 440                 445
Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
    450                 455                 460
Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
465                 470                 475                 480
His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
                485                 490                 495
Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500                 505
```

<210> 330
<211> 491
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 330

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
35 40 45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala
115 120 125
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
145 150 155 160
Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser
165 170 175
Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly
180 185 190
Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asn
195 200 205
Ser Val Lys Gly Arg Phe Pro Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr
210 215 220
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Gly Tyr
225 230 235 240
Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Ser Ala Asp Tyr Trp
245 250 255
Gly Gln Gly Thr His Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro
260 265 270
Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu
275 280 285
Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His
290 295 300
Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu
305 310 315 320
Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr
325 330 335
Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe
340 345 350

```
Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg
            355                 360                 365
Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser
    370                 375                 380
Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr
385                 390                 395                 400
Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys
                405                 410                 415
Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn
            420                 425                 430
Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu
        435                 440                 445
Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly
    450                 455                 460
His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr
465                 470                 475                 480
Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
                485                 490
```

<210> 331
<211> 501
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 331

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

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala
115 120 125
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu
145 150 155 160
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu
165 170 175
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp
180 185 190
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr
195 200 205
Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asn Ser Val Lys Gly Arg Phe
210 215 220
Pro Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
225 230 235 240
Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Gly Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly
245 250 255
Lys Trp Pro Ala Gly Ser Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr His Val
260 265 270
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
275 280 285
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
290 295 300
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe
305 310 315 320
Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
325 330 335
Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
340 345 350
Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
355 360 365
Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
370 375 380
Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
385 390 395 400
Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
405 410 415
Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
420 425 430
Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
435 440 445
Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
450 455 460
Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
465 470 475 480
Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
485 490 495
Ala Leu Pro Pro Arg
500

<210> 332
<211> 511
<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 332

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
        35                  40                  45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala
        115                 120                 125
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
145                 150                 155                 160
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
                165                 170                 175
Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
            180                 185                 190
Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
        195                 200                 205
Lys Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr
    210                 215                 220
Tyr Tyr Ala Asn Ser Val Lys Gly Arg Phe Pro Ile Ser Arg Asp Asn
225                 230                 235                 240
Ala Glu Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
                245                 250                 255
Thr Ala Gly Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Ser
            260                 265                 270
Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr His Val Thr Val Ser Ser Thr Ser
        275                 280                 285
Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala
    290                 295                 300
Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
305                 310                 315                 320
Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile
                325                 330                 335
Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val
            340                 345                 350
```

```
Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
            355                 360                 365
Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
        370                 375                 380
Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg
385                 390                 395                 400
Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln
                405                 410                 415
Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
            420                 425                 430
Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro
        435                 440                 445
Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp
    450                 455                 460
Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg
465                 470                 475                 480
Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr
                485                 490                 495
Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500                 505                 510
```

<210> 333
<211> 496
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 333

```
Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
 1               5                  10                  15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
            20                  25                  30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
        35                  40                  45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65                  70                  75                  80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
                85                  90                  95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala
        115                 120                 125
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
    130                 135                 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
145                 150                 155                 160
Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
                165                 170                 175
```

Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro
180 185 190
Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr
195 200 205
Thr Tyr Tyr Ala Asn Ser Val Lys Gly Arg Phe Pro Ile Ser Arg Asp
210 215 220
Asn Ala Glu Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225 230 235 240
Asp Thr Ala Gly Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly
245 250 255
Ser Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr His Val Thr Val Ser Ser Thr
260 265 270
Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile
275 280 285
Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala
290 295 300
Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr
305 310 315 320
Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu
325 330 335
Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile
340 345 350
Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp
355 360 365
Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
370 375 380
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
385 390 395 400
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
405 410 415
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
420 425 430
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
435 440 445
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
450 455 460
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
465 470 475 480
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
485 490 495

<210> 334
<211> 501
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 334

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
35 40 45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala
115 120 125
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu
145 150 155 160
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu
165 170 175
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp
180 185 190
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe Val Thr Ser Ile Thr
195 200 205
Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asn Ser Val Lys Gly Arg Phe
210 215 220
Pro Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
225 230 235 240
Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Gly Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly
245 250 255
Lys Trp Pro Ala Gly Ser Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr His Val
260 265 270
Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr
275 280 285
Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala
290 295 300
Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe

305 310 315 320
Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val
325 330 335
Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Lys Arg Gly Arg Lys
340 345 350
Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr
355 360 365
Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu
370 375 380
Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
385 390 395 400
Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
405 410 415
Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
420 425 430
Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
435 440 445
Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
450 455 460
Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
465 470 475 480
Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
485 490 495
Ala Leu Pro Pro Arg
500

<210> 335
<211> 506
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 335

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
His Ala Ala Arg Pro Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly
35 40 45
Thr Leu Ser Lys Asn Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
50 55 60
Glu Arg Gly Phe Val Ala Ser Ile Thr Trp Asp Gly Arg Thr Thr Tyr
65 70 75 80
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
85 90 95
Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
100 105 110
Ala Val Tyr Val Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Pro Ala
115 120 125
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160
Ser Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly
165 170 175
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Lys
180 185 190
Asn Thr Val Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Phe
195 200 205
Val Thr Ser Ile Thr Cys Asp Gly Arg Thr Thr Tyr Tyr Ala Asn Ser
210 215 220
Val Lys Gly Arg Phe Pro Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Thr Val
225 230 235 240
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Gly Tyr Val
245 250 255
Cys Ala Asp Leu Gly Lys Trp Pro Ala Gly Ser Ala Asp Tyr Trp Gly
260 265 270
Gln Gly Thr His Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Thr Thr Thr Pro Ala
275 280 285
Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser
290 295 300
Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr
305 310 315 320
Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala
325 330 335
Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys
340 345 350
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
355 360 365

```
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
    370                 375                 380
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg
385                 390                 395                 400
Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
                405                 410                 415
Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
            420                 425                 430
Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro
        435                 440                 445
Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
    450                 455                 460
Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
465                 470                 475                 480
Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
                485                 490                 495
Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
            500                 505
```

<210> 336
<211> 1488
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 336

```
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg ccccttggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtcc agctggtgga aagcggagga ggcctggtgc agccaggagg cagcctgagg 120
ctgtcctgcg aggcctctgg cttcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatctctc gcagcgacgg cagcacatac 240
tatgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagcagag acaacgccaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgaatctccct gaagcctgag gataccgcag catactattg cgcagcagga 360
gcagactgta gcggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg ctcccaggtg cagctggtgg agtctggagg cggcctggtg 480
cagcctggag gcagcctgag actgagctgt gaagcttccg gatttaccct ggactactat 540
gcaatcggat ggtttaggca ggcaccagga aaggagagag aaggcgtgat ctgtatctcc 600
agatctgacg gctctacata ctatgccgat agtgtcaaag gacggttcac catctctaga 660
gataatgcca agaagacagt ctatctgcag atgaattagcc tgaaggccga ggacacagcc 720
gcctattact gcgcagcagg agcagattgt agtgggtatc tgagggacta tgagtttcgg 780
gggcaggggа cacaggtgac agtgagttct actagtacca cgacgccagc gccgcgacca 840
ccaacaccgg cgcccaccat cgcgtcgcag ccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgccgg 900
ccagcggcgg ggggcgcagt gcacacgagg gggctggact tcgcctgtga tatctacatc 960
tgggcgccct tggccgggac ttgtggggtc cttctcctgt cactggttat caccctttac 1020
tgcaaacggg gcagaaagaa actcctgtat atattcaaac aaccatttat gagaccagta 1080
caaactactc aagaggaaga tggctgtagc tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga 1140
tgtgaactga gagtgaagtt cagcaggagc gcagacgccc ccgcgtacca gcagggccag 1200
aaccagctct ataacgagct caatctagga cgaagagagg agtacgatgt tttggacaag 1260
agacgtggcc gggaccctga gatggggga aagccgagaa ggaagaaccc tcaggaaggc 1320
ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa 1380
ggcgagcgcc ggaggggcaa ggggcacgat ggcctttacc agggtctcag tacagccacc 1440
aaggacacct acgacgcccc tcacatgcag gccctgcccc ctcgctaa              1488
```

<210> 337
<211> 1869
<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 337

```
atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cctctggccc tgctgctgca cgccgcacgc 60
cctcaggtcc agctggtcga gtcaggagga ggcctggtgc agccaggagg ctccctgcgg 120
ctgtcttgcg aggccagcgg cttcaccctg gactactatg ccatcggctg gtttaggcag 180
gcacctggaa aggagaggga gggagtgatc tgtatctcca gatctgacgg ctccacatac 240
tatgccgatt ctgtgaaggg ccggttcacc atctctagag acaacgccaa gaagacagtg 300
tacctgcaga tgatcagcct gaagcccgag gataccgcag tactattgc cgcagcagga 360
gcagactgtt ccggatacct gagggattat gagtttaggg gacagggaac ccaggtgaca 420
gtgagctccg gaggaggagg ctcccaggtg cagctggtgg agtctgggag cggcctggtg 480
cagcctggag gctccctgag gctgtcttgc gaggcaagcg gcttcaccct ggattactat 540
gcaatcggat ggtttaggca ggcaccagga aagggagagg aaggcgtgat ctgtatccagc 600
cgctccgacg gcagtaccta ctatgccgat tccgtcaaag gccggttcac catctccaga 660
gacaatgcca agaagacagt ctatctgcag atgaatctct tgaaggcctga ggatacagcc 720
gcctattact gtgccgcagg agcagactgt agtggctatc tgagagatta tgagtttcgc 780
ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc ggaggaggag gcagccaggt ccagctggtg 840
gaatccggcg gaggcctggt gcagcccggc ggctccctga gactgtcctg tgaagcctcc 900
ggatttactc tggattatta cgctattgga tggttcagac aggcccctgg caaagaaaga 960
gaagggtga tctgtatctc tcggagcgac ggctctacat actatgccga tagcgtcaag 1020
ggaagattta ccatctccag agataatgcc aagaagacag tgtatctgca gatgatttcc 1080
ctgaagcccg aggacactgc cgcctattac tgtgcagcag gagcagattg tagcgggtat 1140
ctgcgggatt atgaatttag aggacagggc actcaggtga cagtctcaag cactagtacc 1200
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 1260
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag gggctggac 1320
ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgcca ttggccgggа cttgtggggt ccttctcctg 1380
tcactggtta tcaccctta ctgcaaacgg ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa 1440
caaccattta tgagaccagt acaaactact caagaggaag atggctgtag ctgccgattt 1500
ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc 1560
cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag 1620
gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga 1680
aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc 1740
tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 1800
cagggtctca gtacagccac caaggacacc tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc 1860
cctcgctaa                                                        1869
```

<210> 338
<211> 1467
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 338

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
```

```
cctcaggtca aactggaaga atctggcgga ggcctggtgc aggcaggacg gagcctgcgc 120
ctgagctgcg cagcatccga gcacaccttc agctcccacg tgatgggctg gttttggcag 180
gccccaggca aggagagaga gagcgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagccggg acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaacagcct gaagcccgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgacg cagcagactt tgattcctgg ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatctgaggt gcagctggtg gagagcggag gcggcctggt gcaggcccgga 480
ggctctctga ggctgagctg tgcagcatcc ggaagaacct tcacaatggg ctggtttagg 540
caggcaccag gaaaggagag ggagttcgtg gcagcaatca gcctgtcccc taccctggcc 600
tactatgccg agagcgtgaa gggcaggttt accatctccc gcgataacgc caagaataca 660
gtggtgctgc agatgaacte cctgaaacct gaggacacag ccctgtacta ttgtgccgcc 720
gatcggaaga gcgtgatgag cattagacca gactattggg ggcagggaac acaggtgacc 780
gtgagcagca ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 840
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 900
cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 960
tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa 1020
ctcctgtata tattcaaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1080
ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1140
agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 1200
aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 1260
atggggggaa agccgagaag gaagaaccct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 1320
gataagatgg cggaggccta cagtgagatt gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag 1380
gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt acagccacca aggacaccta cgacgccctt 1440
cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa                                     1467
```

<210> 339
<211> 1497
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 339

```
atggctctgc ctgtcacogc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtca aactggaaga aagtggggga ggcctggtgc aggcaggacg gagcctgcgc 120
ctgagctgcg cagcatccga gcacaccttc agctcccacg tgatgggctg gtttcggcag 180
gccccaggca aggagagaga gtccgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgatt ctgtgaaggg ccggttcacc atcagcagag acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaatagcct gaagccgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgacg cagcagactt tgattcctgg ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatctggagg aggaggaagc ggaggaggag gatccgaggt gcagctggtg 480
gagtctggag gcggcctggt gcaggccgga ggctctctga ggctgagctg tgcagcatcc 540
ggaagaacct tcacaatggg ctggtttagg caggcaccag gaaaggagag ggagttcgtg 600
gcagcaatca gcctgtcccc taccctggcc tactatgccg agtccgtgaa gggcaggttt 660
accatctctc gcgataacgc caagaataca gtggtgctgc agatgaacag cctgaaacct 720
gaggacacag ccctgtacta ttgtgccgcc gatcggaaga gcgtgatgag cattagaccc 780
gattattggg gacagggcac acaggtgaca gtgagtagca ctagtaccac gacgccagcg 840
ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag 900
gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat 960
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtgggggtcc ttctcctgtc actggttatc 1020
accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata ttatcaaaca accatttatg 1080
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 1140
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag 1200
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1260
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1320
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1380
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1440
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa    1497
```

<210> 340
<211> 1527
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 340

```
atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcaaga 60
ccacaggtca aactggaaga atcaggagga ggcctggtgc aggcaggacg gagcctgcgc 120
ctgagctgcg cagcatccga gcacaccttc agctcccacg tgatgggctg gtttcggcag 180
gccccaggca aggagagaga gtccgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgatt ccgtgaaggg ccggttcacc atcagccggg acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaacagcct gaagcccgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgacg cagcagactt tgatagctgg ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatctggagg aggaggaagc ggaggaggag gaagcggcgg cggcggctct 480
ggcggcggcg gcagcgaggt gcagctggtg gagagcggcg gcggcctggt gcaggccggc 540
ggctctctga ggctgagctg tgcagcatcc ggaagaacct tcacaatggg ctggtttagg 600
caggcaccag gaaaggagag ggagttcgtg gcagcaatca gcctgtcccc taccctggcc 660
tactatgccg agagcgtgaa gggcaggttt accatctccc gcgataacgc caagaataca 720
gtggtgttac aaatgaacag cctgaaacct gaggacacag ccctgtacta ttgtgccgcc 780
gatcggaaga gcgtgatgag cattagaccc gattattggg ggcaggggac acaggtgacc 840
gtgagcagca ctagtaccac gacgccagcg ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc 900
gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg 960
cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat atctacatct gggcgccctt ggccgggact 1020
tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa 1080
ctcctgtata tattcaaaca accatttatg agaccagtac aaactactca agaggaagat 1140
ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc 1200
agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag cagggccaga accagctcta taacgagctc 1260
aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag 1320
atggggggaa agccgagaag gaagaaccct caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa 1380
gataagatgg cggaggccta cagtgagatt gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag 1440
gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt acagccacca aggacaccta cgacgccctt 1500
cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa                                      1527
```

<210> 341
<211> 1482
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 341

```
atggctctgc ctgtgaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgcacga 60
cctgaagtcc agctggtgga atccgggggа ggcctggtgc aggcaggagg ctccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcgg aagaacctto acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180
aaggagaggg agttcgtggc cgccatctcc ctgtctccta ccctggccta ctatgccgag 240
agcgtgaagg gcaggtttac catctccogc gacaacgcca agaatacagt ggtgctgcag 300
atgaacagcc tgaagccaga ggacacagcc ctgtactatt gcgccgccga tcggaagtct 360
gtgatgagca tcagacccga ttactggggc cagggcaccc aggtgacagt gagctccgga 420
ggaggaggat ccggcggagg aggctctcag gtgaagctgg aggagtccgg aggcggcctg 480
gtgcaggccg gacggtccct gagactgtct tgtgccgcca gcgagcacac cttctctagc 540
cacgtgatgg gatggttcag gcaggcacct ggaaaggaga gggagtccgt ggcagtgatc 600
ggatggaggg acatcagcac atcctacgcc gattctgtga agggccggtt caccatcagc 660
agagacaacg ccaagaagac actgtattta caaatgaaca gcctgaagcc cgaggatacc 720
gccgtgtact attgtgccgc ccggcggatt gacgccgcag actttgactc atggggqcag 780
ggaactcagg tgacogtgtc ctcaactagt accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca 840
ccggcgccca ccatcgcgtc gcagccoctg tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg 900
gcggggggcg cagtgcacac gagggggctg gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg 960
ccottggccg ggacttgtgg ggtccttctc ctgtcactgg ttatcaccct ttactgcaaa 1020
cgggqcagaa agaaactcct gtatatattc aaacaaccat ttatgagacc agtacaaact 1080
actcaagagg aagatggctg tagctgccga tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa 1140
ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac gcccccgcgt accagcaggg ccagaaccag 1200
ctctataacg agctcaatct aggacgaaga gaggagtacg atgttttgga caagagacgt 1260
```

```
ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg agaaggaaga accctcagga aggcctgtac 1320
aatgaactgc agaaagataa gatggcggag gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag 1380
cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt taccagggtc tcagtacagc caccaaggac 1440
acctacgacg cccttcacat gcaggccctg ccccctcgct aa                    1482
```

<210> 342
<211> 1497
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 342

```
atggccctgc ctgtcaccgc tctgctgctg ccccttggccc tgctgctgca cgccgcacgc 60
cctgaggtcc agctggtcga gtccgggggg ggcctggtgc aggcaggagg ctccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcgg aagaacctte acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180
aaggagaggg agttcgtggc cgccatctcc ctgtctccta ccctggccta ctatgccgag 240
tccgtgaagg gcaggtttac catctctcgc gacaacgcca agaatacagt ggtgctgcag 300
atgaactccc tgaagccaga ggacacagcc ctgtactatt gcgccgccga tcggaagtct 360
gtgatgagca tcagacccga ttactggggc cagggcaccc aggtgacagt gagctccgga 420
ggaggaggat ccggcggagg aggctctggc ggcggcggca gccaggtgaa gctggaggag 480
agcggaggcg gcctggtgca ggccggacgg tccctgagac tgtcttgtgc cgccagcgag 540
cacaccttct ctagccacgt gatgggatgg ttcaggcagg cacctggaaa ggagagggag 600
tctgtggccg tgatcggctg gagggacatc agcacatcct acgccgatag cgtgaagggc 660
cggttcacca tctccagaga caacgccaag aagacactgt atctgcagat gaatagcctg 720
aagcccgagg ataccgccgt gtactattgt gccgccggcc ggattgacgc cgcagatttt 780
gattcttggg ggcagggaac tcaggtgacc gtgtcctcaa ctagtaccac gacgccagcg 840
ccgcgaccac caacaccggc gcccaccatc gcgtcgcagc ccctgtccct gcgcccagag 900
gcgtgccggc cagcggcggg gggcgcagtg cacacgaggg ggctggactt cgcctgtgat 960
atctacatct gggcgccctt ggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 1020
accctttact gcaaacgggg cagaaagaaa ctcctgtata tattcaaaca accatttatg 1080
agaccagtac aaactactca agaggaagat ggctgtagct gccgatttcc agaagaagaa 1140
gaaggaggat gtgaactgag agtgaagttc agcaggagcg cagacgcccc cgcgtaccag 1200
cagggccaga accagctcta taacgagctc aatctaggac gaagagagga gtacgatgtt 1260
ttggacaaga gacgtggccg ggaccctgag atggggggaa agccgagaag gaagaaccct 1320
caggaaggcc tgtacaatga actgcagaaa gataagatgg cggaggccta cagtgagatt 1380
gggatgaaag gcgagcgccg gaggggcaag gggcacgatg gcctttacca gggtctcagt 1440
acagccacca aggacaccta cgacgccctt cacatgcagg ccctgccccc tcgctaa    1497
```

<210> 343
<211> 1512
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 343

atggctctgc ctgtgaccgc cctgctgctg ccctggccc tgctgctgca cgccgcacga 60
cctgaagtcc agctggtgga atctggcgga ggcctggtgc aggcaggagg ctccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcgg aagaaccttc acaatgggct ggtttaggca ggcaccagga 180
aaggagaggg agttcgtggc cgccatctcc ctgtctccta ccctggccta ctatgccgag 240
tctgtgaagg gcaggtttac catcagccgc gacaacgcca agaatacagt ggtgctgcag 300
atgaacagcc tgaagcccga ggacacagcc ctgtactatt gcgccgccga tcggaagtct 360
gtgatgagca tcagaccccga ttactggggc cagggcaccc aggtgacagt gagctccgga 420
ggaggaggat ccggcggagg aggctctggc ggcggcggct ccggcggcgg cggctcccag 480
gtgaagctgg aggagtccgg aggcggcctg gtgcaggccg gacggtccct gagactgtct 540
tgtgccgcca gcgagcacac cttctctagc cacgtgatgg gatggttcag gcaggcacct 600
ggaaaggaga gggagagcgt ggcagtgatc ggatggaggg acatcagcac atcctacgcc 660
gattccgtga agggccggtt caccatcagc cgggacaacg ccaagaagac actgtattta 720
caaatgaaca gcctgaagcc cgaggatacc gccgtgtact attgtgccgc ccggcggatt 780
gatgccgcag actttgatag ttggggacag gggactcagg tcaccgtcag cagcactagt 840
accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgcccc ccatcgcgtc gcagcccctg 900
tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcggggggcg cagtgcacac gaggggctg 960
gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg ccccttggccg ggacttgtgg ggtccttctc 1020
ctgtcactgg ttatcaccct ttactgcaaa cggggcagaa agaaactcct gtatatattc 1080
aaacaaccat ttatgagacc agtacaaact actcaagagg aagatggctg tagctgccga 1140
tttccagaag aagaagaagg aggatgtgaa ctgagagtga agttcagcag gagcgcagac 1200
gcccccgcgt accagcaggg ccagaaccag ctctataacg agctcaatct aggacgaaga 1260
gaggagtacg atgttttgga caagagacgt ggccgggacc ctgagatggg gggaaagccg 1320
agaaggaaga accctcagga aggcctgtac aatgaactgc agaaagataa gatggcggag 1380
gcctacagtg agattgggat gaaaggcgag cgccggaggg gcaaggggca cgatggcctt 1440
taccagggtc tcagtacagc caccaaggac acctacgacg cccttcacat gcaggccctg 1500
ccccctcgct aa 1512

<210> 344
<211> 1470
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 344

```
atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtca aactggaaga atctggcgga ggccctggtgc aggcaggcag gtccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcga gcacaccttt agctcccacg tgatgggatg gttcaggcag 180
gcaccaggca aggagagaga gtccgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgatt ctgtgaaggg ccggtttacc atcagcagag acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaatagcct gaagcctgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgatg cagcagactt cgattcctgg ggacagggaa cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gaagcggcgt gcagctggtg gagtccggcg gcggcctggt gcaggccggc 480
gattctctgc ggctgacctg tacagcctcc ggcagagcct tctctaccta ctttatggcc 540
tggtttagac aggccccctgg caaggagagg gagtttgtgg caggaatcgc atggagcgga 600
ggatccacag catacgccga ctccgtgaag ggcaggttca ccatctctcg cgataacgcc 660
aagaatacag tgtatctgca gatgaactct ctgaagagcg aggacacagc cgtgtactat 720
tgtgccagcc ggggaatcga ggtggaggaa tttgggggctt ggggycaggg aactcaggtg 780
accgtctcat caactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 840
atcgcgtcgc agccccctgtc cctgcgccca gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca 900
gtgcacacga ggggggctgga cttcgcctgt gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg 960
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcaccctttt actgcaaacg gggcagaaag 1020
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 1080
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 1140
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 1200
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 1260
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1320
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1380
aaggggcacg atggcctta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1440
cttcacatgc aggccctgcc cctcgctaa                                   1470
```

<210> 345
<211> 1500
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 345

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtca aactggaaga atctggcgga ggcctggtgc aggcaggcag gtccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcga gcacaccttt agctcccacg tgatgggatg gttcaggcag 180
gcaccaggca aggagagaga gagcgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgata gcgtgaaggg ccggtttacc atctccagag acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaatagcct gaagcctgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
```

agaatcgatg cagcagactt cgattcctgg ggacagggaa cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatccggagg aggaggatct ggcggcggcg gcagcgccgt gcagctggtg 480
gagtccggcg gcggcctggt gcaggccggc gactctctga ggctgacctg tacagcctcc 540
ggcagagcct tctctaccta ctttatggcc tggtttagac aggcccctgg caaggagagg 600
gagtttgtgg caggaatcgc atggagcgga ggatccacag catacgcaga ctctgtgaag 660
ggcaggttca ccatcagccg cgataacgcc aagaatacag tgtatctgca gatgaactct 720
ctgaagagcg aggatacagc cgtgtactat tgtgcctccc gggggattga agtcgaggaa 780
tttggggctt ggggcaggg cactcaggtc accgtctcat ctactagtac cacgacgcca 840
gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc atcgcgtcgc agccccctgtc cctgcgccca 900
gaggcgtgcc ggccagcggc ggggcgcgca gtgcacacga ggggcctgga cttgcctgt 960
gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt 1020
atcaccctttt actgcaaacg gggcagaaag aaactcctgt atatattcaa acaaccattt 1080
atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa 1140
gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac 1200
cagcagggcc agaaccagct ctataacgag ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat 1260
gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac 1320
cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag 1380
attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc aaggggcacg atggcctttta ccagggtctc 1440
agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa 1500

<210> 346
<211> 1530
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 346

atggctctgc ccgtcactgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctaga 60
ccacaggtca aactggagga gtcagggtga ggcctggtgc aggcaggcag gtccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcga gcacaccttt agctcccacg tgatgggatg gttcaggcag 180
gcaccaggca aggagagaga gagcgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgatt ctgtgaaggg ccggtttacc atcagcagag acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaacagcct gaaggctgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgatg cagcagactt cgatcctgg ggacagggaa cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatccggagg aggaggatct ggcggcggcg gcagtggcgg cggcggctcc 480
ggcggcggcg gctctgccgt gcagctggtg gagtccggcg gcggcctggt gcaggccggc 540
gactccctga ggctgacctg tacagccagc ggcagagcct tctccaccta ctttatggcc 600
tggtttagac aggcccctgg caaggagagg gagtttgtgg caggaatcgc atggagcgga 660
ggatccacag catacgccga ctccgtgaag ggcaggttca ccatctctcg cgataacgcc 720
aagaatacag tgtatctgca gatgaactct ctgaagagcg aggatacagc cgtgtactat 780
tgtgcctccc ggggcattga agtggaagaa tttggggctt ggggacaggg gactcaggtc 840
accgtcagca gcactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 900
atcgcgtcgc agccccctgtc cctgcgccca gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca 960
gtgcacacga ggggggctgga cttcgcctgt gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg 1020
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcacccttt actgcaaacg gggcagaaag 1080
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 1140
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 1200
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 1260
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 1320
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1380
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1440
aaggggcacg atggcctttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1500
cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa 1530

<210> 347

<211> 1485
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 347

```
atggctctgc ccgtgaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca tgctgctcgc 60
cctcaggtga aactggaaga atctggcgga ggcctggtgc aggcaggcag gtccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcga gcacaccttt agctcccacg tgatgggatg gttcaggcag 180
gcaccaggca aggagagaga gtccgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgatt ctgtgaaggg ccggtttacc atcagcagag acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaacagcct gaagcctgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgatg cagcagactt cgatagctgg ggacagggaa cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatccggagg aggaggatct gccgtgccagc tggtggagag cggcggcggc 480
ctggtgcagg ccggcgattc cctgaggctg acctgtacag ccagcggcag agccttctcc 540
acctacttta tggcctggtt tagacaggcc cctggcaagg agagggagtt tgtggcagga 600
atcgcatgga gcggaggatc cacagcatac gccgactccg tgaagggcag gttcaccatc 660
tctcgcgata acgccaagaa tacagtgtat ctgcagatga actctctgaa gagcgaggac 720
acagccgtgt actattgtgc cagccggggg attgaagtgg aagaatttgg ggcttgggga 780
cagggcactc aggtcacagt gtcatctact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 840
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 900
gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg 960
gcgccccttgg ccgggacttg tggggtcctt ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc 1020
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 1080
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 1140
gaactgagag tgaagttcag caggagcgca gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac 1200
cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260
cgtggccggg accctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1320
tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1380
gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1440
gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gctaa                  1485
```

<210> 348
<211> 1500
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 348

```
atggctctgc ccgtcaccgc actgctgctg ccccttggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtca aactggaaga atctggagga ggccctggtgc aggcaggcag gtccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcga gcacaccttt agctcccacg tgatgggatg gttcaggcag 180
gcaccaggca aggagagaga gagcgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgata gcgtgaaggg ccggtttacc atctccagag acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaatagcct gaagcctgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgatg cagcagactt cgattcctgg ggacagggaa cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatccggagg aggaggatct ggcggcggcg gcagcgccgt gcagctggtg 480
gagtccggcg gcggcctggt gcaggccggc gactctctga ggctgacctg tacagcctcc 540
ggcagagcct tctctaccta ctttatggcc tggtttagac aggccctgg caaggagagg 600
gagtttgtgg caggaatcgc atggagcgga ggatccacag catacgcaga ctctgtgaag 660
ggcaggttca ccatcagccg cgataacgcc aagaatacag tgtatctgca gatgaactct 720
ctgaagagcg aggatacagc cgtgtactat tgtgcctccc gggggattga agtggaagaa 780
tttggggctt ggggcaggg gactcaggtc accgtcagca gcactagtac cacgacgcca 840
gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc atcgcgtcgc agccctgtcc cctgcgccca 900
gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca gtgcacacga ggggctgga cttcgcctgt 960
gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt 1020
atcaccctt actgcaaacg ggcagaaag aaactcctgt atatattcaa acaaccattt 1080
atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa 1140
gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac 1200
cagcagggcc agaaccagct ctataacgag ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat 1260
gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac 1320
cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag 1380
attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc aaggggcacg atggccttta ccagggtctc 1440
agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa 1500
```

<210> 349
<211> 1515
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 349

```
atggctctgc ctgtgaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgccgctcgc 60
cctcaggtga aactggaaga atctggagga ggcctggtgc aggcaggcag gtcctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcga gcacacctit agctcccacg tgatgggatg gttcaggcag 180
gcaccaggca aggagagaga gtccgtggcc gtgatcggct ggagggacat ctccacatct 240
tacgccgatt ccgtgaaggg ccggtttacc atcagccggg acaacgccaa gaagacactg 300
tatctgcaga tgaacagcct gaagcctgag gacaccgccg tgtactattg cgcagcaagg 360
agaatcgatg cagcagactt cgattcttgg ggccagggca cccaggtgac agtgtctagc 420
ggaggaggag gatccggagg aggaggatct ggcggcggcg gctccggcgg cggcggctcc 480
gccgtgcagc tggtggagtc tggcggcggc ctggtgcagg ccggcgacag cctgaggctg 540
acctgtacag cctctggcag agccttcagc acctacttta tggcctggtt tagacaggcc 600
cctggcaagg agagggagtt tgtggcagga atcgcatgga gcggaggatc cacagcatac 660
gccgacagcg tgaagggcag gttcaccatc tcccgcgata acgccaagaa tacagtgtat 720
ctgcagatga actctctgaa gagcgaggat acagccgtgt actattgtgc cagccggggg 780
attgaagtgg aagaatttgg ggcatggggg cagggtactc aggtcaccgt cagtagcact 840
agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 900
ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca gcggcggggg gcgcagtgca cacgaggggg 960
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1020
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacggggca gaaagaaact cctgtatata 1080
ttcaaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1140
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1200
gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1260
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1320
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1380
gaggctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1440
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgccttca catgcaggcc 1500
ctgccccctc gctaa                                                  1515
```

<210> 350
<211> 1470
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 350

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgaggtgc agctggtgga gtctggggga ggaatggtgc aggctgggga ctctctgaga 120
ctatcctgtg tgcagtctac ttacaccgtc aatagcgatg tcatgggctg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagga gcgattatgt ggaatgatgg tattacatac 240
ttgcaagact ccgtgaaggg ccgatttacc atcttcagag acaacgccaa gaacacggtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacttgag gatacggccg tttattactg tgcagcatcc 360
aagggtagat actcggaata tgagtactgg ggccaggggа cccaggtcac cgtctcctca 420
ggaggaggag gatctgcggt gcagctggtg gagtctgggg gaggattggt gcaggctggg 480
gactctctga gactcacctg tacagcctct ggacgcgcct tcagtaccta tttcatggcc 540
tggttccgcc aggctccagg gaaggagcgt gagtttgtag caggaattgc atggagtggt 600
ggtagcacgg cgtatgcaga ctccgtgaag ggccgattca ccatctccag agacaacgcc 660
aagaacacgg tgtatctgca aatgaacagc ctgaaatctg aggacacggc cgtttattac 720
tgtgccagca gggggattga ggtcgaagag tttggtgcct ggggccaggg gacccaggtc 780
accgtctcgt cgactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 840
atcgcgtcgc agccctgtc cctgcgccca gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca 900
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg 960
```

```
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcaccctttactgcaaacg gggcagaaag 1020
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 1080
gatggctgta gcctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 1140
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 1200
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggacccct 1260
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1320
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1380
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1440
cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa                                  1470
```

<210> 351
<211> 1500
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 351

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgaggtgc agctggtgga gtctggggga ggaatggtgc aggctggggga ctctctgaga 120
ctatcctgtg tgcagtctac ttacaccgtc aatagcgatg tcatgggctg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagga gcgattatgt ggaatgatgg tattacatac 240
ttgcaagact ccgtgaaggg ccgatttacc atcttcagag acaacgccaa gaacacggtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacttgag gatacggccg ttattactg tgcagcatcc 360
aagggtagat actcggaata tgagtactgg ggccaggggga cccaggtcac cgtctcctca 420
ggaggaggag gatctggagg aggaggaagc ggaggaggag gatccgcggt gcagctggtg 480
gagtctgggg gaggattggt gcaggctggg gactctctga gactcacctg tacagcctct 540
ggacgcgcct tcagtaccta tttcatggcc tggttccgcc aggctccagg gaaggagcgt 600
gagtttgtag caggaattgc atggagtggt ggtagcacgg cgtatgcaga ctccgtgaag 660
ggccgattca ccatctccag agacaacgcc aagaacacgg tgtatctgca aatgaacagc 720
ctgaaatctg aggacacggc cgtttattac tgtgccagca ggggggattga ggtcgaagag 780
tttggtgcct ggggccaggg gaccctaggtc accgtctcgt cgactagtac cacgacgcca 840
gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccaco atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccca 900
gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca gtgcacacga ggggggctgga cttcgcctgt 960
gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt 1020
atcaccottt actgcaaacg gggcagaaag aaactcctgt atatattcaa acaaccattt 1080
atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa 1140
gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag ttcagcagga gcgcagacgc cccgcgtac 1200
cagcagggcc agaaccagct ctataacgag ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat 1260
gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac 1320
cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag 1380
attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc aagggcacg atggccttta ccagggtctc 1440
agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa 1500
```

<210> 352
<211> 1530
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 352

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgaggtgc agctggtgga gtctgggggа ggaatggtgc aggctgggga ctctctgaga 120
ctatcctgtg tgcagtctac ttacaccgtc aatagcgatg tcatgggctg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagga gcgattatgt ggaatgatgg tattacatac 240
ttgcaagact ccgtgaaggg ccgatttacc atcttcagag acaacgccaa gaacacggtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacttgag gataccggcg tttattactg tgcagcatcc 360
aagggtagat actcggaata tgagtactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 420
ggaggaggag gatctggagg aggaggaagc ggaggaggag gaagcggcgg cggcggctct 480
ggcggcggcg gcagcgcggt gcagctggtg gagtctgggg gaggattggt gcaggctggg 540
gactctctga gactcacctg tacagcctct ggacgcgcct tcagtaccta tttcatggcc 600
tggttccgcc aggctccagg gaaggagcgt gagtttgtag caggaattgc atggagtggt 660
ggtagcacgg cgtatgcaga ctccgtgaag ggccgattca ccatctccag agacaacgcc 720
aagaacacgg tgtatctgca aatgaacagc ctgaaatctg aggacacggc cgtttattac 780
tgtgccagca gggggattga ggtcgaagag tttggtgcct ggggccaggg gacccaggtc 840
accgtctcgt cgactagtac cacgacgcca gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc 900
atcgcgtcgc agccccctgt ccatgcgcca gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca 960
gtgcacacga gggggctgga cttcgcctgt gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg 1020
acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt atcaccctt actgcaaacg gggcagaaag 1080
aaactcctgt atatattcaa acaaccattt atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa 1140
gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag 1200
ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac cagcagggcc agaaccagct ctataacgag 1260
ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct 1320
gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag 1380
aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc 1440
aaggggcacg atggccttta ccagggtctc agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc 1500
cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa 1530

<210> 353
<211> 1485
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 353

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgaggtgc agctggtgga gtctgggggg ggaatggtgc aggctgggga ctctctgaga 120
ctatcctgtg tgcagtctac ttacaccgtc aatagcgatg tcatgggctg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagga gcgattatgt ggaatgatgg tattacatac 240
ttgcaagact ccgtgaaggg ccgatttacc atcttcagag acaacgccaa gaacacggtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacttgag gatacggccg tttattactg tgcagcatcc 360
aagggtagat actcggaata tgagtactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 420
ggaggaggag gatccggcgg aggaggctct gcggtgcagc tggtggagtc tgggggagga 480
ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc acctgtacag cctctggacg cgccttcagt 540
acctatttca tggcctggtt ccgccaggct ccagggaagg agcgtgagtt tgtagcagga 600
attgcatgga gtggtggtag cacggcgtat gcagactccg tgaagggccg attcaccatc 660
tccagagaca acgccaagaa cacggtgtat ctgcaaatga acagcctgaa atctgaggac 720
acggccgttt attactgtgc cagcaggggg attgaggtcg aagagtttgg tgcctggggc 780
cagggaccc aggtcaccgt ctcgtcgact agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca 840
acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca 900
gcggcgggcg gcgcagtgca cacgaggggg ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg 960
gcgccccttgg ccgggacttg tggggtcctt ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc 1020
aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 1080
actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 1140
gaactgagag tgaagttcag caggagcgca gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac 1200
cagctctata acgagctcaa tctaggacga agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga 1260
cgtggccggg accctgagat ggggggaaag ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg 1320
tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc 1380
gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag 1440
gacacctacg acgcccttca catgcaggcc ctgccccctc gctaa                  1485
```

<210> 354
<211> 1500
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 354

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgaggtgc agctggtgga gtctgggggg ggaatggtgc aggctgggga ctctctgaga 120
ctatcctgtg tgcagtctac ttacaccgtc aatagcgatg tcatgggctg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagga gcgattatgt ggaatgatgg tattacatac 240
ttgcaagact ccgtgaaggg ccgatttacc atcttcagag acaacgccaa gaacacggtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacttgag gatacggccg tttattactg tgcagcatcc 360
aagggtagat actcggaata tgagtactgg ggccaggggа ccccaggtcac cgtctcctca 420
ggaggaggag gatccggcgg aggaggctct ggcggcggcg gcagcgcggt gcagctggtg 480
gagtctgggg gaggattggt gcaggctggg gactctctga gactcacctg tacagcctct 540
ggacgcgcct tcagtaccta tttcatggcc tggttccgcc aggctccagg gaaggagcgt 600
gagtttgtag caggaattgc atggagtggt ggtagcacgg cgtatgcaga ctccgtgaag 660
ggccgattca ccatctccag agacaacgcc aagaacacgg tgtatctgca aatgaacagc 720
ctgaaatctg aggacacggc cgtttattac tgtgccagca gggggattga ggtcgaagag 780
tttggtgcct ggggccaggg gacccaggtc accgtctcgt cgactagtac cacgacgcca 840
gcgccgcgac caccaacacc ggcgcccacc atcgcgtcgc agcccctgtc cctgcgccca 900
gaggcgtgcc ggccagcggc ggggggcgca gtgcacacga ggggctgga cttcgcctgt 960
gatatctaca tctgggcgcc cttggccggg acttgtgggg tccttctcct gtcactggtt 1020
atcaccctt actgcaaacg gggcagaaag aaactcctgt atatatteaa acaaccattt 1080
atgagaccag tacaaactac tcaagaggaa gatggctgta gctgccgatt tccagaagaa 1140
gaagaaggag gatgtgaact gagagtgaag ttcagcagga gcgcagacgc ccccgcgtac 1200
cagcagggcc agaaccagct ctataacgag ctcaatctag gacgaagaga ggagtacgat 1260
gttttggaca agagacgtgg ccgggaccct gagatggggg gaaagccgag aaggaagaac 1320
cctcaggaag gcctgtacaa tgaactgcag aaagataaga tggcggaggc ctacagtgag 1380
attgggatga aaggcgagcg ccggaggggc aagggcacg atggccttta ccagggtctc 1440
agtacagcca ccaaggacac ctacgacgcc cttcacatgc aggccctgcc ccctcgctaa 1500

<210> 355
<211> 1515
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 355

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgaggtgc agctggtgga gtctgggggg ggaatggtgc aggctgggga ctctctgaga 120
ctatcctgtg tgcagtctac ttacaccgtc aatagcgatg tcatgggctg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagga gcgattatgt ggaatgatgg tattacatac 240
ttgcaagact ccgtgaaggg ccgatttacc atcttcagag acaacgccaa gaacacggtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacttgag gatacggccg tttattactg tgcagcatcc 360
aagggtagat actcggaata tgagtactgg ggccagggga ccccaggtcac cgtctcctca 420
ggaggaggag gatccggcgg aggaggctct ggcggcggcg gctccggcgg cggcggctcc 480
gcggtgcagc tggtggagtc tgggggagga ttggtgcagg ctggggactc tctgagactc 540
acctgtacag cctctggacg cgccttcagt acctatttca tggcctggtt ccgccaggct 600
ccagggaagg agcgtgagtt tgtagcagga attgcatgga gtggtggtag cacggcgtat 660
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa cacggtgtat 720
ctgcaaatga acagcctgaa atctgaggac acggccgttt attactgtgc cagcaggggg 780
attgaggtcg aagagtttgg tgcctggggc cagggaccc aggtcaccgt ctcgtcgact 840
agtaccacga cgccagcgcc gcgaccacca acaccggcgc ccaccatcgc gtcgcagccc 900
ctgtccctgc gcccagaggc gtgccggcca gcggcgggg gcgcagtgca cacgaggggg 960
ctggacttcg cctgtgatat ctacatctgg gcgcccttgg ccgggacttg tggggtcctt 1020
ctcctgtcac tggttatcac cctttactgc aaacgggcca gaaagaaact cctgtatata 1080
ttcaaacaac catttatgag accagtacaa actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc 1140
cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt gaactgagag tgaagttcag caggagcgca 1200
gacgcccccg cgtaccagca gggccagaac cagctctata acgagctcaa tctaggacga 1260
agagaggagt acgatgtttt ggacaagaga cgtggccggg accctgagat ggggggaaag 1320
ccgagaagga agaaccctca ggaaggcctg tacaatgaac tgcagaaaga taagatggcg 1380
gaggcctaca gtgagattgg gatgaaaggc gagcgccgga ggggcaaggg gcacgatggc 1440
ctttaccagg gtctcagtac agccaccaag gacacctacg acgcccttca catgcaggcc 1500
ctgccccctc gctaa                                                  1515
```

<210> 356
<211> 1479
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 356

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtaaacgg ccgattcccc atcaaccgaa acaacgccga gaatttggtg 300
gttttgcaaa tgaacagcct gaaacctgac gacacggccc tttattactg tgcagcatac 360
cggaagtcaa taatgtctat tcagccccgac tactggggcc aggggaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaggag gaggaggatc tcaggtacag ctggtggagt ctgggggagg attggtgcag 480
gctgggggct ctctgagact ctcctgtgca gcctctggag gcaccttaag taaaaatacc 540
gtggcttggt tccgccaggc tccagggaag gagcgtgggt ttgtagcgtc tattacctgg 600
gatggtcgta cgacatacta tgcagactcc gtgaagggcc gattcaccat ctccagagac 660
aacgccaaga acacagtgta tctgcaaatg aacagcctga aacctgagga tacggccgtt 720
tatgtctgtg cagacttagg gaaatggcct gcgggcccgg cggactactg gggccagggg 780
acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg 840
gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg 900
gggggcgcag tgcacacgag gggctggac ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc 960
ttggccggga cttgtggggt ccttctcctg tcactggtta tcacccttta ctgcaaacgg 1020
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaactact 1080
caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 1140
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 1200
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 1260
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 1320
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1380
cggaggggca agggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1440
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgctaa                        1479
```

<210> 357
<211> 1509
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 357

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtaaacgg ccgattcccc atcaaccgaa acaacgccga gaatttggtg 300
gttttgcaaa tgaacagcct gaaacctgac gacacggccc tttattactg tgcagcatac 360
cggaagtcaa taatgtctat tcagccccgac tactggggcc aggggaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaggag gaggaggatc tggaggagga ggaagcggag gaggaggatc ccaggtacag 480
ctggtggagt ctgggggagg attggtgcag gctgggggct ctctgagact ctcctgtgca 540
gcctctggag gcaccttaag taaaaatacc gtggcttggt tccgccaggc tccagggaag 600
gagcgtgggt ttgtagcgtc tattacctgg gatggtcgta cgacatacta tgcagactcc 660
gtgaagggcc gattcaccat ctccagagac aacgccaaga acacagtgta tctgcaaatg 720
aacagcctga aacctgagga tacggccgtt tatgtctgtg cagacttagg gaaatggcct 780
gcgggcccgg cggactactg gggccagggg acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc 840
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 900
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag gggctggac 960
ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc ttggccggga cttgtgggggt ccttctcctg 1020
tcactggtta tcacccttta ctgcaaacgg ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa 1080
caaccattta tgagaccagt acaaactact caagaggaag atggctgtag ctgccgattt 1140
```

```
ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc 1200
cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag 1260
gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga 1320
aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc 1380
tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 1440
cagggtctca gtacagccac caaggacacc tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc 1500
cctcgctaa                                                        1509
```

<210> 358
<211> 1539
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 358

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggaggg gtctggggga ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtaaacgg ccgattcccc atcaaccgaa acaacgccga gaatttggtg 300
gttttgcaaa tgaacagcct gaaacctgac gacacggccc tttattactg tgcagcatac 360
cggaagtcaa taatgtctat tcagccccgac tactggggcc aggggaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaggag gaggaggatc tggaggagga ggaagcggag gaggaggaag cggcggcggc 480
ggctctggcg gcggcggcag ccaggtacag ctggtggagt ctgggggagg attggtgcag 540
gctgggggct ctctgagact ctcctgtgca gcctctggag gcaccttaag taaaaatacc 600
gtggcttggt tccgccaggc tccagggaag gagcgtgggt ttgtagcgtc tattacctgg 660
gatggtcgta cgacatacta tgcagactcc gtgaagggcc gattcaccat ctccagagac 720
aacgccaaga acacagtgta tctgcaaatg aacagcctga aacctgagga tacggccgtt 780
tatgtctgtg cagacttagg gaaatggcct gcgggccccgg cggactactg gggccagggg 840
acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg 900
gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg 960
gggggcgcag tgcacacgag gggctggac ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc 1020
ttggccggga cttgtggggt ccttctcctg tcactggtta tcacccttta ctgcaaacgg 1080
ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa caaccattta tgagaccagt acaaactact 1140
caagaggaag atggctgtag ctgccgattt ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg 1200
agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 1260
tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 1320
cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 1380
gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 1440
cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 1500
tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgctaa                        1539
```

<210> 359
<211> 1494
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 359

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtaaacgg ccgattcccc atcaaccgaa acaacgccga gaatttggtg 300
gttttgcaaa tgaacagcct gaaacctgac gacacggccc tttattactg tgcagcatac 360
cggaagtcaa taatgtctat tcagcccgac tactgggccc agggaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaggag gaggaggatc cggcggagga ggctctcagg tacagctggt ggagtctggg 480
ggaggattgg tgcaggctgg gggctctctg agactctcct gtgcagcctc tggaggcacc 540
ttaagtaaaa ataccgtggc ttggttccgc caggctccag ggaaggagcg tgggtttgta 600
gcgtctatta cctgggatgg tcgtacgaca tactatgcag actccgtgaa gggccgattc 660
accatctcca gagacaacgc caagaacaca gtgtatctgc aaatgaacag cctgaaacct 720
gaggatacgg ccgtttatgt ctgtgcagac ttagggaaat ggcctgcggg cccggcggac 780
tactggggcc agggaccca ggtcaccgtc tcctcaacta gtaccacgac gccagcgccg 840
cgaccaccaa cacccgcgcc caccatcgcg tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg 900
tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac acgaggggcc tggacttcgc ctgtgatatc 960
tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt ggggtcctte tcctgtcact ggttatcacc 1020
ctttactgca aacggggcag aaagaaactc ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga 1080
ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa 1140
ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc aggagcgcag acgccccccgc gtaccagcag 1200
ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 1260
gacaagagac gtggccggga ccctgagatg ggggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag 1320
gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 1380
atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 1440
gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg ctaa 1494
```

<210> 360
<211> 1509
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 360

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtaaacgg ccgattcccc atcaaccgaa acaacgccga gaatttggtg 300
gttttgcaaa tgaacagcct gaaacctgac gacacggccc tttattactg tgcagcatac 360
cggaagtcaa taatgtctat tcagccccgac tactgggggcc aggggaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaggag gaggaggatc cggcggagga ggctctggcg gcggcggcag ccaggtacag 480
ctggtggagt ctgggggagg attggtgcag gctgggggct ctctgagact ctcctgtgca 540
gcctctggag gcaccttaag taaaaatacc gtggcttggt tccgccaggc tccagggaag 600
gagcgtgggt ttgtagcgtc tattacctgg gatggtcgta cgacatacta tgcagactcc 660
gtgaagggcc gattcaccat ctccagagac aacgccaaga acacagtgta tctgcaaatg 720
aacagcctga aacctgagga tacggccgtt tatgtctgtg cagacttagg gaaatggcct 780
gcgggcccgg cggactactg gggccagggg acccaggtca ccgtctcctc aactagtacc 840
acgacgccag cgccgcgacc accaacaccg gcgcccacca tcgcgtcgca gcccctgtcc 900
ctgcgcccag aggcgtgccg gccagcggcg gggggcgcag tgcacacgag gggctggac 960
ttcgcctgtg atatctacat ctgggcgccc ttggccgggg cttgtggggt ccttctcctg 1020
tcactggtta tcacccttta ctgcaaacgg ggcagaaaga aactcctgta tatattcaaa 1080
caaccattta tgagaccagt acaaactact cagaggaag atggctgtag ctgccgattt 1140
ccagaagaag aagaaggagg atgtgaactg agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc 1200
cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc tataacgagc tcaatctagg acgaagagag 1260
gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga 1320
aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc 1380
tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc cggaggggca aggggcacga tggcctttac 1440
cagggtctca gtacagccac caaggacacc tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc 1500
cctcgctaa                                                        1509
```

<210> 361
<211> 1524
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 361

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtaa agctggagga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
```

```
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccagggg aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtaaacgg ccgattcccc atcaaccgaa acaacgccga gaatttggtg 300
gttttgcaaa tgaacagcct gaaacctgac gacacggccc tttattactg tgcagcatac 360
cggaagtcaa taatgtctat tcagccccgac tactggggcc aggggaccca ggtcaccgtc 420
tcctcaggag gaggaggatc cggcggagga ggctctggcg gcggcggctc cggcggcggc 480
ggctcccagg tacagctggt ggagtctggg ggaggattgg tgcaggctgg gggctctctg 540
agactctcct gtgcagcctc tggaggcacc ttaagtaaaa ataccgtggc ttggttccgc 600
caggctccag ggaaggagcg tgggtttgta gcgtctatta cctgggatgg tcgtacgaca 660
tactatgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaacgc caagaacaca 720
gtgtatctgc aaatgaacag cctgaaacct gaggatacgg ccgtttatgt ctgtgcagac 780
ttagggaaat ggcctgcggg cccggcggac tactggggcc aggggaccca ggtcaccgtc 840
tcctcaacta gtaccacgac gccagcgccg cgaccaccaa caccggcgcc caccatcgcg 900
tcgcagcccc tgtccctgcg cccagaggcg tgccggccag cggcgggggg cgcagtgcac 960
acgagggggc tggacttcgc ctgtgatatc tacatctggg cgcccttggc cgggacttgt 1020
gggggtcctc tcctgtcact ggttatcacc ctttactgca aacggggcag aaagaaactc 1080
ctgtatatat tcaaacaacc atttatgaga ccagtacaaa ctactcaaga ggaagatggc 1140
tgtagctgcc gatttccaga agaagaagaa ggaggatgtg aactgagagt gaagttcagc 1200
aggagcgcag acgcccccgc gtaccagcag ggccagaacc agctctataa cgagctcaat 1260
ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg gacaagagac gtggccgggg accctgagatg 1320
gggggaaagc cgagaaggaa gaaccctcag gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat 1380
aagatggcgg aggcctacag tgagattggg atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg 1440
cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca gccaccaagg acacctacga cgcccttcac 1500
atgcaggccc tgccccctcg ctaa                                       1524
```

<210> 362
<211> 1476
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 362

```
atggctctgc cogtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtac agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaaaaata ccgtggcttg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtagcg tctattacct gggatggtcg tacgacatac 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg tttatgtctg tgcagactta 360
gggaaatggc ctgcgggccc ggcggactac tgggqccagg ggacccaggt caccgtctcc 420
tcaggaggag gaggatctga tgtgcagctg gtggagtctg gggqaggatt ggtgcaggct 480
ggggqctctc tgagactctc ctgtgcagcc tctggaggca ccttaagtaa gaataccgtg 540
gcttgggtcc gccaggctcc agggaaggag cgtgggtttg taacgtctat tacctgtgat 600
ggtcgtacga catactatgc gaactccgtg aagggccgat tccccatctc cagagacaac 660
gccgagaaca cagtgtatct gcaaatgaac agcctgaaac ctgaggatac ggccggttat 720
gtctgtgcag acttagggaa gtggcctgcg ggttcggcgg actactgggg ccagggaccc 780
cacgtcaccg tctcctccac tagtaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 840
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 900
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 960
gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg caaacgggqc 1020
agaaagaaac tcctgtatat attcaaacaa ccatttatga gaccagtaca aactactcaa 1080
gaggaagatg gctgtagctg ccgatttcca gaagaagaag aaggaggatg tgaactgaga 1140
gtgaagttca gcaggagcgc agacgcccgc gcgtaccagc agggccagaa ccagctctat 1200
aacgagctca atctaggacg aagagaggag tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg 1260
gaccctgaga tggggggaaa gccgagaagg aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa 1320
ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg 1380
aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac 1440
gacgcccttc acatgcaggc cctgccccct cgctaa                           1476
```

<210> 363
<211> 1506
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 363

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtac agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcaccttc agtaaaaata ccgtggcttg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtagcg tctattacct gggatggtcg tacgacatac 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg tttatgtctg tgcagactta 360
gggaaatggc ctgcgggccc ggcggactac tggggccagg ggaccctggt caccgtctcc 420
tcaggaggag gaggatctgg aggaggagga agcggaggag gaggatccga tgtgcagctg 480
gtggagtctg gggaggatt ggtgcaggct gggggctctc tgagactctc ctgtgcagcc 540
tctggaggca ccttaagtaa gaataccgtg gcttgggtcc gccaggctcc agggaaggag 600
cgtgggtttg taacgtctat tacctgtgat ggtcgtacga catactatgc gaactccgtg 660
aagggccgat tccccatctc cagagacaac gccgagaaca cagtgtatct gcaaatgaac 720
agcctgaaac ctgaggatac ggccggttat gtctgtgcag acttagggaa gtggcctgcg 780
ggttcggcgg actactgggg ccagggacc cacgtcaccg tctcctccac tagtaccacg 840
acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg 900
cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc 960
gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg gccgggactt gtgggtcct tctcctgtca 1020
ctggttatca ccctttactg caaacgggcc agaaagaaac tcctgtatat attcaaacaa 1080
ccatttatga gaccagtaca aactactcaa gaggaagatg gctgtagctg ccgatttcca 1140
gaagaagaag aaggaggatg tgaactgaga gtgaagttca gcaggagcgc agacgccccc 1200
gcgtaccagc agggccagaa ccagctctat aacgagctca atctaggacg aagagaggag 1260
tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg gaccctgaga tggggggaaa gccgagaagg 1320
aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac 1380
agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag 1440
ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac gacgcccttc acatgcaggc cctgccccct 1500
cgctaa                                                          1506
```

<210> 364
<211> 1536
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 364

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtac agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcaccttc agtaaaaata ccgtggcttg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtagcg tctattacct gggatggtcg tacgacatac 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg tttatgtctg tgcagactta 360
gggaaatggc ctgcgggccc ggcggactac tggggccagg ggaccctggt caccgtctcc 420
tcaggaggag gaggatctgg aggaggagga agcggaggag gaggatccga cggcggcggc 480
tctggcggcg gcggcagcga tgtgcagctg gtggagtctg gggaggatt ggtgcaggct 540
gggggctctc tgagactctc ctgtgcagcc tctggaggca ccttaagtaa gaataccgtg 600
gcttgggtcc gccaggctcc agggaaggag cgtgggtttg taacgtctat tacctgtgat 660
ggtcgtacga catactatgc gaactccgtg aagggccgat tccccatctc cagagacaac 720
gccgagaaca cagtgtatct gcaaatgaac agcctgaaac ctgaggatac ggccggttat 780
gtctgtgcag acttagggaa gtggcctgcg ggttcggcgg actactgggg ccaggggacc 840
cacgtcaccg tctcctccac tagtaccacg acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg 900
cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg 960
ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg 1020
gccgggactt gtgggtcct tctcctgtca ctggttatca ccctttactg caaacgggcc 1080
agaaagaaac tcctgtatat attcaaacaa ccatttatga gaccagtaca aactactcaa 1140
gaggaagatg gctgtagctg ccgatttcca gaagaagaag aaggaggatg tgaactgaga 1200
gtgaagttca gcaggagcgc agacgccccc gcgtaccagc agggccagaa ccagctctat 1260
```

```
aacgagctca atctaggacg aagagaggag tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg 1320
gaccctgaga tgggggaaaa gccgagaagg aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa 1380
ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg 1440
aggggcaagg ggcacgatgg cctttaccag ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac 1500
gacgcccttc acatgcaggc cctgccccct cgctaa                           1536
```

<210> 365
<211> 1491
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 365

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtac agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaaaaata ccgtggctig gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtagcg tctattacct gggatggtcg tacgacatac 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg tttatgtctg tgcagactta 360
gggaaatggc ctgcgggccc ggcggactac tggggccagg ggacccaggt caccgtctcc 420
tcaggaggag gaggatccgg cggaggaggc tctgatgtgc agctggtgga gtctgggggg 480
ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta 540
agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg 600
tctattacct gtgatggtcg tacgacatac tatgcgaact ccgtgaaggg ccgattcccc 660
atctccagag acaacgccga gaacacagtg tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag 720
gatacggccg gttatgtctg tgcagactta gggaagtggc ctgcgggttc ggcggactac 780
tggggccagg ggaccccacgt caccgtctcc tccactagta ccacgacgcc agcgccgcga 840
ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg cagccccctgt ccctgcgccc agaggcgtgc 900
cggccagcgg cgggggcgc agtgcacacg agggggctgg acttcgcctg tgatatctac 960
atctgggcgc ccttggccgg gacttgtggg gtccttctcc tgtcactggt tatcaccctt 1020
tactgcaaac ggggcagaaa gaaactcctg tatatattca aacaaccatt tatgagacca 1080
gtacaaacta ctcaagagga agatggctgt agctgccgat ttccagaaga agaagaagga 1140
ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg agcgcagacg cccccgcgta ccagcagggc 1200
cagaaccagc tctataacga gctcaatcta ggacgaagag aggagtacga tgttttggac 1260
aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa 1320
ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag atggcggagg cctacagtga gattgggatg 1380
aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac gatggccttt accagggtct cagtacagcc 1440
accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg caggccctgc ccctcgcta a           1491
```

<210> 366
<211> 1506
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 366

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtac agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcaccttc agtaaaaata ccgtggcttg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtagcg tctattacct gggatggtcg tacgacatac 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg tttatgtctg tgcagactta 360
gggaaatggc ctgcgggccc ggcggactac tggggccagg ggacccaggt caccgtctcc 420
tcaggaggag gaggatccgg cggaggaggc tctggcggcg gcggcagcga tgtgcagctg 480
gtggagtctg gggaggatt ggtgcaggct gggggctctc tgagactctc ctgtgcagcc 540
tctggaggca ccttaagtaa gaataccgtg gcttgggtcc gccaggctcc agggaaggag 600
cgtgggtttg taacgtctat tacctgtgat ggtcgtacga catactatgc gaactccgtg 660
aagggccgat tcaccatctc cagagacaac gccgagaaca cagtgtatct gcaaatgaac 720
agcctgaaac ctgaggatac ggccggttat gtctgtgcag acttagggaa gtggcctgcg 780

ggttcggcgg actactgggg ccagggacc cacgtcaccg tctcctccac tagtaccacg 840
acgccagcgc cgcgaccacc aacaccggcg cccaccatcg cgtcgcagcc cctgtccctg 900
cgcccagagg cgtgccggcc agcggcgggg ggcgcagtgc acacgagggg gctggacttc 960
gcctgtgata tctacatctg ggcgcccttg gccgggactt gtggggtcct tctcctgtca 1020
ctggttatca ccctttactg caaacgggge agaaagaaac tcctgtatat attcaaacaa 1080
ccatttatga gaccagtaca aactactcaa gaggaagatg gctgtagctg ccgatttcca 1140
gaagaagaag aaggaggatg tgaactgaga gtgaagttca gcaggagcgc agacgcccca 1200
gcgtaccagc agggccagaa ccagctctat aacgagctca atctaggacg aagagaggag 1260
tacgatgttt tggacaagag acgtggccgg gaccctgaga tggggggaaa gccgagaagg 1320
aagaaccctc aggaaggcct gtacaatgaa ctgcagaaag ataagatggc ggaggcctac 1380
agtgagattg ggatgaaagg cgagcgccgg aggggcaagg ggcacgatgg ccttcaccag 1440
ggtctcagta cagccaccaa ggacacctac gacgcccttc acatgcaggc cctgccccct 1500
cgctaa 1506

<210> 367
<211> 1521
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 367

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctcaggtac agctggtgga gtctgggga ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaaaaata ccgtggcttg gttccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtagcg tctattacct gggatggtcg tacgacatac 240
tatgcagact ccgtgaaggg ccgattcacc atctccagag acaacgccaa gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg tttatgtctg tgcagactta 360
gggaaatggc ctgcgggccc ggcggactac tggggccagg ggacccaggt caccgtctcc 420
tcaggaggag gaggatccgg cggaggaggc tctggcggcg gcggctccgg cggcggcggc 480
tccgatgtgc agctggtgga gtctgggga ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 540
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 600
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 660
tatgcgaact ccgtgaaggg ccgattcccc atctccagag acaacgccga gaacacagtg 720
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg gttatgtctg tgcagactta 780
gggaagtggc ctgcgggttc ggcggactac tggggccagg ggacccacgt caccgtctcc 840
tccactagta ccacgacgcc agcgccgcga ccaccaacac cggcgcccac catcgcgtcg 900
cagccgctgt ccctgcgccc agaggcgtgc cggccagcgg cgggggcgc agtgcacacg 960
aggggctgg acttcgcctg tgatatctac atctgggcgc ccttggccgg gacttgtggg 1020
gtccttctcc tgtcactggt tatcaccctt tactgcaaac ggggcagaaa gaaactcctg 1080
tatatattca aacaaccatt tatgagacca gtacaaacta ctcaaggagga agatggctgt 1140
agctgccgat ttccagaaga agaagaagga ggatgtgaac tgagagtgaa gttcagcagg 1200
agcgcagacg ccccgcgta ccagcagggc cagaaccagc tctataacga gctcaatcta 1260
ggacgaagag aggagtacga tgttttggac aagagacgtg gccgggaccc tgagatgggg 1320
ggaaagccga gaaggaagaa ccctcaggaa ggcctgtaca atgaactgca gaaagataag 1380
atggcggagg cctacagtga gattgggatg aaaggcgagc gccggagggg caaggggcac 1440
gatggccttt accagggtct cagtacagcc accaaggaca cctacgacgc ccttcacatg 1500
caggccctgc cccctcgcta a                                          1521
```

<210> 368
<211> 1473
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 368

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgatgtgc agctggtgga gtctgggga ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
```

```
tatgcgaact ccgtgaaggg ccgattcccc atctccagag acaacgccga gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg gttatgtctg tgcagactta 360
gggaagtggc ctgcgggttc ggcggactac tggggccagg ggacccacgt caccgtctcc 420
tccggaggag gaggatctga tgtgcagctg gtggagtctg ggggaggctt ggtgcagcct 480
gggggggtctc tgagactctc ctgtgcagcc tctggacgga ccttcagtag cattgtcatg 540
ggctggttcc gccaggctcc agggaaggag cgtgagtttg taggagcgat tatgtggaat 600
gatggtatta catacttgca agactccgtg aagggccgat ttaccatctt cagagacaac 660
gccaagaaca cggtgtatct gcaaatgaac agcctgaaac ttgaggatac ggccgtttat 720
tactgtgcag catccaaggg tagatactcg gaatatgagt actgggggcca ggggacccag 780
gtcaccgtct cctcaactag taccacgacg ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc 840
accatcgcgt cgcagccccct gtccctgcgc ccagaggcgt gccggccagc ggcgggggcgc 900
gcagtgcaca cgaggggggct ggacttcgcc tgtgatatct acatctgggc gccttggcc 960
gggacttgtg gggtccttct cctgtcactg gttatcaccc tttactgcaa acggggcaga 1020
aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca tttatgagac cagtacaaac tactcaagag 1080
gaagatggct gtagctgccg atttccagaa gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg 1140
aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg taccagcagg gccagaacca gctctataac 1200
gagctcaatc taggacgaag agaggagtac gatgttttgg acaagagacg tggccgggac 1260
cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg 1320
cagaaagata agatggcgga ggcctacagt gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg 1380
ggccaggggc acgatggcct ttaccagggt ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac 1440
gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc taa                              1473
```

<210> 369
<211> 1503
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 369

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgatgtgc agctggtgga gtctgggggga ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtgaaggg ccgattcccc atctccagag acaacgccga gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg gttatgtctg tgcagactta 360
gggaagtggc ctgcgggttc ggcggactac tggggccagg ggacccacgt caccgtctcc 420
tccggaggag gaggatctgg aggaggagga agcggaggag gaggatccga tgtgcagctg 480
gtggagtctg gggggaggctt ggtgcagcct ggggggtctc tgagactctc ctgtgcagcc 540
tctggacgga ccttcagtag cattgtcatg ggctggttcc gccaggctcc agggaaggag 600
cgtgagtttg taggagcgat tatgtggaat gatggtatta catacttgca agactccgtg 660
aagggccgat ttaccatctt cagagacaac gccaagaaca cggtgtatct gcaaatgaac 720
agcctgaaac ttgaggatac ggccgtttat tactgtgcag catccaaggg tagatactcg 780
gaatatgagt actgggggcca ggggacccag gtcaccgtct cctcaactag taccacgacg 840
ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc accatcgcgt cgcagcccct gtccctgcgc 900
ccagaggcgt gcccggccagc ggcgggggcgc gcagtgcaca cgaggggggct ggacttcgcc 960
tgtgatatct acatctgggc gccttggcc gggacttgtg gggtccttct cctgtcactg 1020
gttatcaccc tttactgcaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 1080
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 1140
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg 1200
taccagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1260
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1320
aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1380
gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1440
ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1500
taa                                                              1503
```

<210> 370
<211> 1533
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 370

atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgatgtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtgaaggg ccgattcccc atctccagag acaacgccga gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gataccggcc gttatgtctg tgcagactta 360
gggaagtggc ctgcgggttc ggcggactac tggggccagg ggacccacgt caccgtctcc 420
tccggaggag gaggatctgg aggaggagga agcggaggag gaggaagcgg cggcggcggc 480
tctggcggcg gcggcagcga tgtgcagctg gtggagtctg ggggaggctt ggtgcagcct 540
ggggggtctc tgagactctc ctgtgcagcc tctggacgga ccttcagtag cattgtcatg 600
ggctggttcc gccaggctcc agggaaggag cgtgagtttg taggagcgat tatgtggaat 660
gatggtatta catacttgca agactccgtg aagggccgat ttaccatctt cagagacaac 720
gccaagaaca cggtgtatct gcaaatgaac agcctgaaac ttgaggatac ggccgtttat 780
tactgtgcag catccaaggg tagatactcg gaatatgagt actgggggcca ggggacccag 840
gtcaccgtct cctcaactag taccacgacg ccagcgccgc gaccaccaac accggcgccc 900
accatcgcgt cgcagccccc gtccctgcgc ccagaggcgt gccggccagc ggcgggggcc 960
gcagtgcaca cgaggggggct ggacttcgcc tgtgatatct acatctgggc gcccttggcc 1020
gggacttgtg gggtccttct cctgtcactg gttatcaccc tttactgcaa acggggcaga 1080
aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca tttatgagac cagtacaaac tactcaagag 1140
gaagatggct gtagctgccg atttccagaa gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg 1200
aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg taccagcagg gccagaacca gctctataac 1260
gagctcaatc taggacgaag agaggagtac gatgttttgg acaagagacg tggccgggac 1320
cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag aacccctcagg aaggcctgta caatgaactg 1380
cagaaagata agatggcgga ggcctacagt gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg 1440
ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt ctcagtacag ccaccaagga cacctacgac 1500
gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc taa 1533

<210> 371
<211> 1488
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 371

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgatgtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtgaaggg ccgattcccc atctccagag acaacgccga gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg gttatgtctg tgcagactta 360
gggaagtggc ctgcgggttc ggcggactac tggggccagg ggacccacgt caccgtctcc 420
tccggaggag gaggatccgg cggaggaggc tctgatgtgc agctggtgga gtctgggggg 480
ggcttggtgc agcctggggg gtctctgaga ctctcctgtg cagcctctgg acggaccttc 540
agtagcattg tcatgggctg gttccgccag gctccaggga aggagcgtga gtttgtagga 600
gcgattatgt ggaatgatgg tattacatac ttgcaagact ccgtgaaggg ccgatttacc 660
atcttcagag acaacgccaa gaacacggtg tatctgcaaa tgaacagcct gaaacttgag 720
gatacggccg tttattactg tgcagcatcc aagggtagat actcggaata tgagtactgg 780
ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca actagtacca cgacgccagc gccgcgacca 840
ccaacaccgg cgcccaccat cgcgtcgcag cccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgccgg 900
ccagcggcgg ggggcgcagt gcacacgagg gggctggact tcgcctgtga tatctacatc 960
tgggcgccct tggccgggac ttgtggggtc cttctcctgt cactggttat caccctttac 1020
tgcaaacggg gcagaaagaa actcctgtat atattcaaac aaccatttat gagaccagta 1080
caaactacte aagaggaaga tggctgtagc tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga 1140
tgtgaactga gagtgaagtt cagcaggagc gcagacgccc ccgcgtacca gcagggccag 1200
aaccagctct ataacgagct caatctagga cgaagagagg agtacgatgt tttggacaag 1260
agacgtggcc gggaccctga gatgggggga aagccgagaa ggaagaaccc tcaggaaggc 1320
ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa 1380
ggcgagcgcc ggaggggcaa ggggcacgat ggcctttacc agggtctcag tacagccacc 1440
aaggacacct acgacgccct tcacatgcag gccctgcccc ctcgctaa              1488
```

<210> 372
<211> 1503
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 372

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgatgtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtgaaggg ccgattcccc atctccagag acaacgccga gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg gttatgtctg tgcagactta 360
gggaagtggc ctgcgggttc ggcggactac tggggccagg ggacccacgt caccgtctcc 420
tccggaggag gaggatccgg cggaggaggc tctggcggcg gcggcagcga tgtgcagctg 480
gtggagtctg gggqaggctt ggtgcagcct ggggggtctc tgagactctc ctgtgcagcc 540
tctggacgga ccttcagtag cattgtcatg ggctggttcc gccaggctcc agggaaggag 600
cgtgagtttg taggagcgat tatgtggaat gatggtatta catacttgca agactccgtg 660
aagggccgat ttaccatctt cagagacaac gccaagaaca cggtgtatct gcaaatgaac 720
agcctgaaac ttgaggatac ggccgtttat tactgtgcag catccaaggg tagatactcg 780
gaatatgagt actggggcca ggggacccag gtcaccgtct cctcaactag taccacgacg 840
ccagcgccgc gaccaccaac acggcgccc accatcgcgt cgcagcccct gtccctgcgc 900
ccagaggcgt gccggccagc ggcgggggc gcagtgcaca cgagggggct ggacttcgcc 960
tgtgatatct acatctgggc gccttggcc gggacttgtg gggtccttct cctgtcactg 1020
gttatcaccc tttactgcaa acggggcaga aagaaactcc tgtatatatt caaacaacca 1080
tttatgagac cagtacaaac tactcaagag gaagatggct gtagctgccg atttccagaa 1140
gaagaagaag gaggatgtga actgagagtg aagttcagca ggagcgcaga cgcccccgcg 1200
taccagcagg gccagaacca gctctataac gagctcaatc taggacgaag agaggagtac 1260
gatgttttgg acaagagacg tggccgggac cctgagatgg ggggaaagcc gagaaggaag 1320
aaccctcagg aaggcctgta caatgaactg cagaaagata agatggcgga ggcctacagt 1380
gagattggga tgaaaggcga gcgccggagg ggcaaggggc acgatggcct ttaccagggt 1440
ctcagtacag ccaccaagga caccctacgac gcccttcaca tgcaggccct gccccctcgc 1500
taa                                                               1503
```

<210> 373
<211> 1518
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 373

```
atggctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgctgctcgc 60
cctgatgtgc agctggtgga gtctgggggg ggattggtgc aggctggggg ctctctgaga 120
ctctcctgtg cagcctctgg aggcacctta agtaagaata ccgtggcttg ggtccgccag 180
gctccaggga aggagcgtgg gtttgtaacg tctattacct gtgatggtcg tacgacatac 240
tatgcgaact ccgtgaaggg ccgattcccc atctccagag acaacgccga gaacacagtg 300
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacctgag gatacggccg gttatgtctg tgcagactta 360
gggaagtggc ctgcgggttc ggcggactac tggggccagg ggacccacgt caccgtctcc 420
tccggaggag gaggatccgg cggaggaggc tctggcggcg gcggctccgg cggcggcggc 480
tccgatgtgc agctggtgga gtctgggggg ggcttggtgc agcctggggg gtctctgaga 540
ctctcctgtg cagcctctgg acggacctte agtagcattg tcatgggctg gttccgccag 600
gctccaggga aggagcgtga gtttgtagga gcgattatgt ggaatgatgg tattacatac 660
ttgcaagact ccgtgaaggg ccgatttacc atcttcagag acaacgccaa gaacacggtg 720
tatctgcaaa tgaacagcct gaaacttgag gatacggccg tttattactg tgcagcatcc 780
aagggtagat actcggaata tgagtactgg ggccagggga cccaggtcac cgtctcctca 840
actagtacca cgacgccagc gccgcgacca ccaacaccgg cgcccaccat cgcgtcgcag 900
```

ccctgtccc tgcgcccaga ggcgtgccgg ccagcggcgg gggcgcagt gcacacgagg 960
gggctggact tcgcctgtga tatctacatc tgggcgccct tggccgggac ttgtggggtc 1020
cttctcctgt cactggttat caccctttac tgcaaacggg gcagaaagaa actcctgtat 1080
atattcaaac aaccatttat gagaccagta caaactactc aagaggaaga tggctgtagc 1140
tgccgatttc cagaagaaga agaaggagga tgtgaactga gagtgaagtt cagcaggagc 1200
gcagacgccc ccgcgtacca gcagggccag aaccagctct ataacgagct caatctagga 1260
cgaagagagg agtacgatgt tttggacaag agacgtggcc ggggaccctga gatgggggga 1320
aagccgagaa ggaagaaccc tcaggaaggc ctgtacaatg aactgcagaa agataagatg 1380
gcggaggcct acagtgagat tgggatgaaa ggcgagcgcc ggaggggcaa ggggcacgat 1440
ggcctttacc agggtctcag tacagccacc aaggacacct acgacgcccc tcacatgcag 1500
gccctgcccc ctcgctaa 1518

<210> 374
<211> 23
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 374

gtcctggctg ctcttctaca agg 23

<210> 375
<211> 23
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 375

ggtacgtgct gttgaactgt tcc 23

<210> 376
<211> 29
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 376

gatgtgcagc tgcaggagtc tggaggagg 29

<210> 377
<211> 29
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 377

gatgtgcagc tgcaggagtc tggggaggc 29

<210> 378
<211> 34
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 378

ctagtgcggc cgctgaggag acggtgacct gggt 34

<210> 379
<211> 9
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 379

gccgccacc 9

<210> 380
<211> 6
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>

<223> Синтетична конструкція

<400> 380

gaattc 6

<210> 381
<211> 6
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 381

actagt 6

<210> 382
<211> 6
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 382

gttaac 6

<210> 383
<211> 6
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 383

acgcgt 6

<210> 384
<211> 6
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 384

atgcat 6

<210> 385
<211> 21
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 385

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
1 5 10 15
Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 386
<211> 18
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 386

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
1 5 10 15
Tyr Ser

<210> 387
<211> 9
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 387

Gly Ser Gly His His His His His His
1 5

<210> 388
<211> 10
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 388

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln
1 5 10

<210> 389
<211> 14
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 389

Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu His Ala Cys
1 5 10

<210> 390
<211> 13
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 390

Asn Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu His Ala Cys Ile Pro
1 5 10

<210> 391
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 391

Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser
1 5 10

<210> 392
<211> 19
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 392

Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg
1 5 10 15
Tyr Cys Asn

<210> 393
<211> 10
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 393

Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser
1 5 10

<210> 394
<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 394

Ala Ser Val Thr Asn Ser Val Lys Gly Thr Asn Ala
1 5 10

<210> 395
<211> 54
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 395

Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1 5 10 15
Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
20 25 30
Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
35 40 45
Val Lys Gly Thr Asn Ala
50

<210> 396
<211> 23
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 396

```
Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu Ile Ile Ser Leu Ala Val
 1               5                  10                  15
Phe Val Leu Met Phe Leu Leu
            20
```

<210> 397
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 397

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

<210> 398
<211> 23
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 398

```
gtccttctcc tgtcactggt tat                                              23
```

<210> 399
<211> 23
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична конструкція

<400> 399

tcttattctt ctggaaatcg gca 23

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Мультивалентний химерний антигенний рецептор (CAR), який містить поліпептид, що містить:
(a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент, де перший BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою перше анти-BCMA sdAb однодоменне антитіло (sdAb), другий BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою друге анти-BCMA sdAb однодоменне антитіло, і кожне перше sdAb і друге sdAb являє собою VHH домен;
(b) трансмембранний домен; і
(c) внутрішньоклітинний сигнальний домен,
де перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb, кожне, незалежно являють собою sdAb, що містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність відповідно до будь-якої з SEQ ID NO: 115-152.

2. CAR за п. 1, де перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb, кожне, незалежно вибирають з групи sdAb, що містить:
(1) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77;
(2) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 2; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 78;
(3) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79;
(4) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 4; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 42; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80;
(5) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 43; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 81;
(6) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 44; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 82;
(7) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 83;
(8) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 46; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 84;
(9) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 47; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 85;
(10) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86;
(11) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87;
(12) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 50; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 88;
(13) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 89;

(14) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 52; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 90;
(15) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 91;
(16) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 16; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 54; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 92;
(17) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 55; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 93;
(18) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 56; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 94;
(19) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 57; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 95;
(20) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 20; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 58; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 96;
(21) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 21; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 59; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 97;
(22) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 22; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 60; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 98;
(23) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 23; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 61; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 99;
(24) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 24; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 62; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 100;
(25) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 25; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 63; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 101;
(26) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 26; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 64; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 102;
(27) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 27; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 65; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 103;
(28) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 28; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 104;
(29) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 29; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 67; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 105;
(30) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 30; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 68; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 106;
(31) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 31; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 69; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 107;
(32) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 108;
(33) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 33; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 71; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 109;

(34) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 34; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 72; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 110;
(35) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 35; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 111;
(36) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 36; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 74; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 112;
(37) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 37; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 75; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 113; і
(38) CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 38; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 76; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 114.

3. Мультивалентний CAR за п. 1, де перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 115, і друге анти-BCMA sdAb містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 115.

4. Мультивалентний CAR за п. 3, де:
(i) перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77; і
(ii) друге анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 39; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 77.

5. Мультивалентний CAR за п. 3, де перше анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 115, і друге анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 115.

6. Мультивалентний CAR за п. 1, де перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 124, і друге анти-BCMA sdAb містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 117.

7. Мультивалентний CAR за п. 6, де:
(i) перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86; і
(ii) друге анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 41; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79.

8. Мультивалентний CAR за п. 6, де перше анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 124, і друге анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 117.

9. Мультивалентний CAR за п. 1, де перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 124, і друге анти-BCMA sdAb містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 125.

10. Мультивалентний CAR за п. 9, де:
(i) перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 48; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 86; і
(ii) друге анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87.

11. Мультивалентний CAR за п. 9, де перше анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 124, і друге анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 125.

12. Мультивалентний CAR за п. 1, де перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 121, і друге

анти-BCMA sdAb містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 125.

13. Мультивалентний CAR за п. 12, де:

(i) перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 7; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 45; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 83; і

(ii) друге анти-BCMA sdAb містить CDR1, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11; CDR2, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 49; і CDR3, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 87.

14. Мультивалентний CAR за п. 12, де перше анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 121, і друге анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 125.

15. Мультивалентний CAR за будь-яким з пп. 1-14, де перше анти-BCMA sdAb і друге анти-BCMA sdAb, кожне, містять амінокислотну послідовність, вибрану із групи, яка складається із SEQ ID NO: 115-152.

16. Мультивалентний химерний антигенний рецептор (CAR), який містить поліпептид, що містить:

(a) позаклітинний антигензв'язуючий домен, що містить перший BCMA-зв'язуючий фрагмент і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент, де перший BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою перше анти-BCMA sdAb однодоменне антитіло(sdAb), і другий BCMA-зв'язуючий фрагмент являє собою друге анти-BCMA sdAb однодоменне антитіло, і кожне перше sdAb і друге sdAb являє собою VHH домен;

(b) трансмембранний домен; і

(c) внутрішньоклітинний сигнальний домен,

де перше анти-BCMA sdAb містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 124, і друге анти-BCMA sdAb містить CDR1, CDR2 і CDR3, як вказано в анти-BCMA sdAb, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 117.

17. Мультивалентний CAR за п. 16, де перше анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 124, і друге анти-BCMA sdAb містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 117

18. Мультивалентний CAR за будь-яким з пп. 1-17, де перше анти-BCMA sdAb розташоване на N-кінці другого анти-BCMA sdAb; або де перше анти-BCMA sdAb розташоване на C-кінці другого анти-BCMA sdAb.

19. Мультивалентний CAR за будь-яким з пп. 1-18, де трансмембранний домен є похідним від молекули, вибраної з групи, що складається з CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 і PD1.

20. Мультивалентний CAR за п. 19, де трансмембранний домен є похідним від CD8α або CD28.

21. Мультивалентний CAR за будь-яким з пп. 1-20, де внутрішньоклітинний сигнальний домен містить первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен імунної ефекторної клітини.

22. Мультивалентний CAR за п. 21, де первинний внутрішньоклітинний сигнальний домен є похідним від CD3ζ.

23. Мультивалентний CAR за будь-яким з пп. 1-22, де внутрішньоклітинний сигнальний домен містить костимулюючий сигнальний домен.

24. Мультивалентний CAR за п. 23, де костимулюючий сигнальний домен є похідним від костимулюючої молекули, вибраної з групи, що складається з CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, LFA-1, ICOS, CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, лігандів CD83 і їх комбінацій.

25. Мультивалентний CAR за п. 24, де костимулюючий сигнальний домен містить цитоплазматичний домен CD28 та/або цитоплазматичний домен CD137.

26. Мультивалентний CAR за будь-яким з пп. 1-25, який додатково містить шарнірний домен, розташований між C-кінцем позаклітинного антигензв'язуючого домену та N-кінцем трансмембранного домену.

27. Мультивалентний CAR за п. 26, де шарнірний домен є похідним від CD8α.

28. Мультивалентний CAR за будь-яким з пп. 1-27, який додатково містить сигнальний пептид, розташований на N-кінці поліпептиду.

29. Мультивалентний CAR за п. 28, де сигнальний пептид є похідним від CD8α.

30. Мультивалентний CAR за будь-яким з пп. 1-29, що містить амінокислотну послідовність, вибрану із групи, яка складається із SEQ ID NO: 298, 300-315, 317-321, 323-327, 329-333, і 335.

31. Виділена нуклеїнова кислота, що містить послідовність нуклеїнової кислоти, що кодує мультивалентний CAR за п. 1.

32. Виділена нуклеїнова кислота за п. 31, де послідовність нуклеїнової кислоти являє собою послідовність SEQ ID NO: 338.

33. Виділена нуклеїнова кислота за п. 31, де послідовність нуклеїнової кислоти вибрана із групи, яка складається із SEQ ID NO: 339-343.

34. Вектор, що містить виділену нуклеїнову кислоту за п. 31.

35. Сконструйована імунна ефекторна клітина людини, що містить мультивалентний CAR за будь-яким з пп. 1-30, виділену нуклеїнову кислоту за п. 31 або вектор за п. 34.

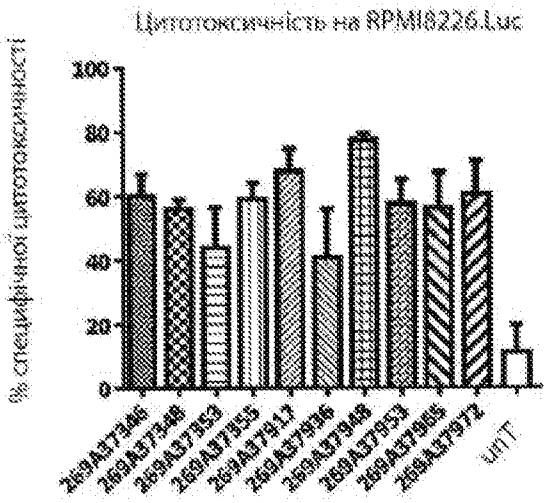
36. Сконструйована імунна ефекторна клітина людини за п. 35, де імунна ефекторна клітина являє собою Т-клітину.

37. Фармацевтична композиція, що містить сконструйовану імунну ефекторну клітину за п. 35 або 36 і фармацевтично прийнятний носій.

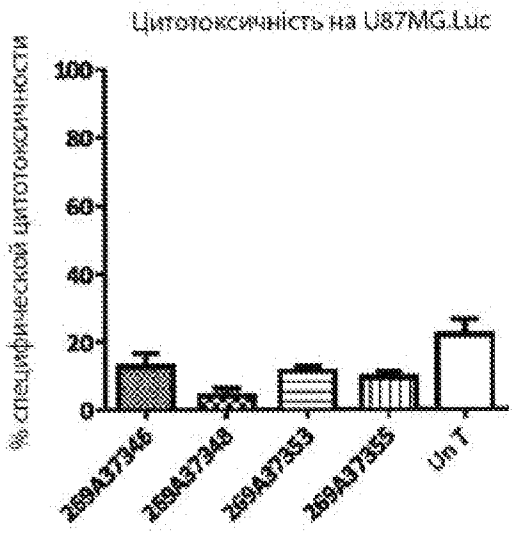
38. Фармацевтична композиція для застосування для приготування лікарського засобу, корисного для лікування раку, який експресує BCMA, що містить сконструйовану імунну ефекторну клітину за п. 35 або 36 і фармацевтично прийнятний носій.

39. Фармацевтична композиція за п. 38, де рак являє собою множинну мієлому.

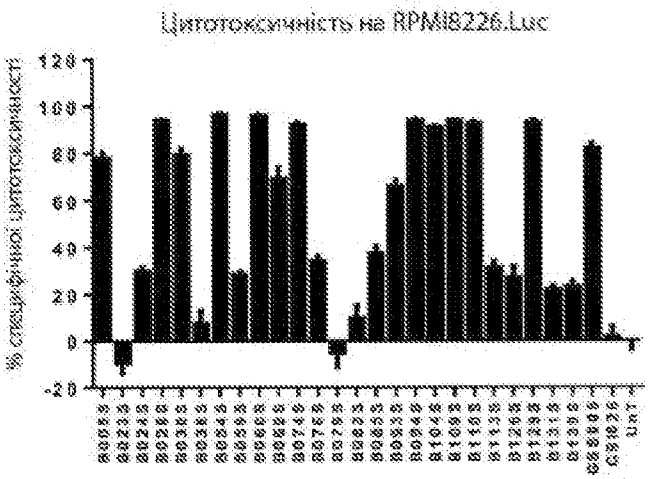
40. Фармацевтична композиція за п. 38, де рак являє собою рефрактерну або рецидивуючу множинну мієлому.



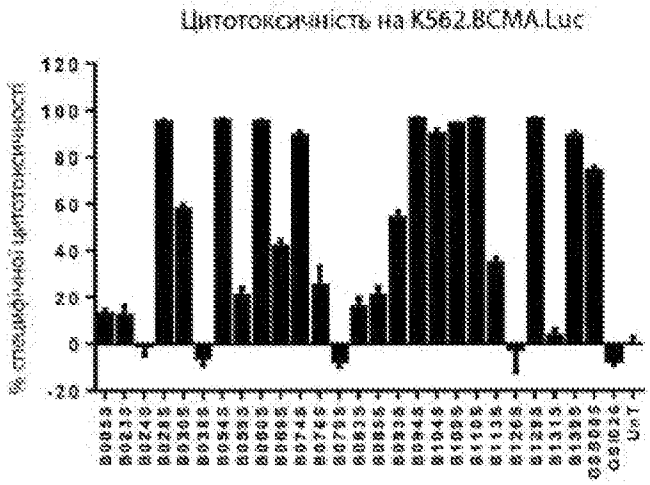
Фіг. 1А


Цитотоксичність на U87MG.Luc
% специфічної цитотоксичності
100
80
60
40
20
0
Un T

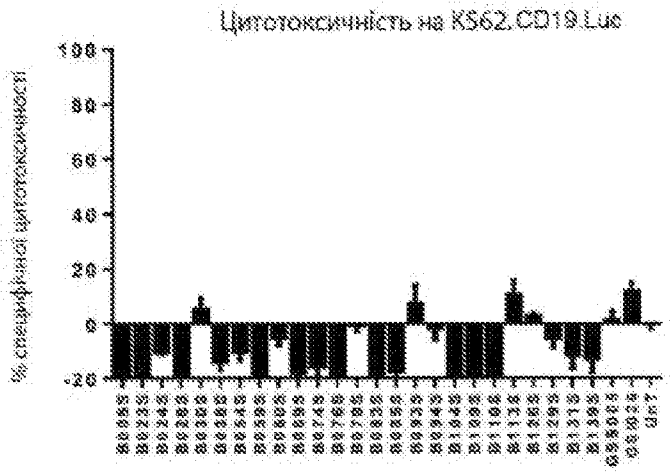
Фіг. 1B


Цитотоксичність на RPMI8226.Luc
% специфічної цитотоксичності
120
100
80
60
40
20
0
-20

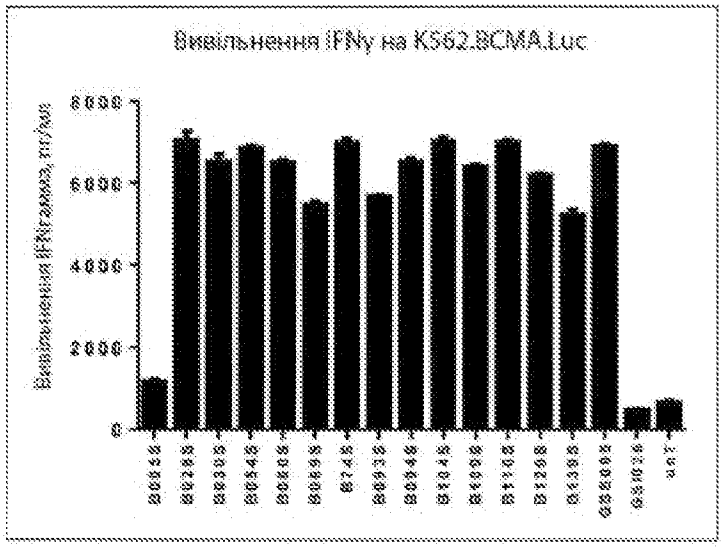
Фіг. 2A


Цитотоксичність на K562.BCMA.Luc
% специфічної цитотоксичності
120
100
80
60
40
20
0
-20

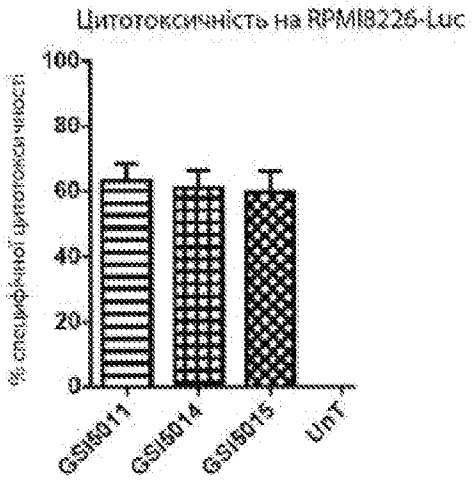
Фіг. 2B


Цитотоксичність на K562.CD19.Luc
% специфічної цитотоксичності
100
80
60
40
20
0
-20

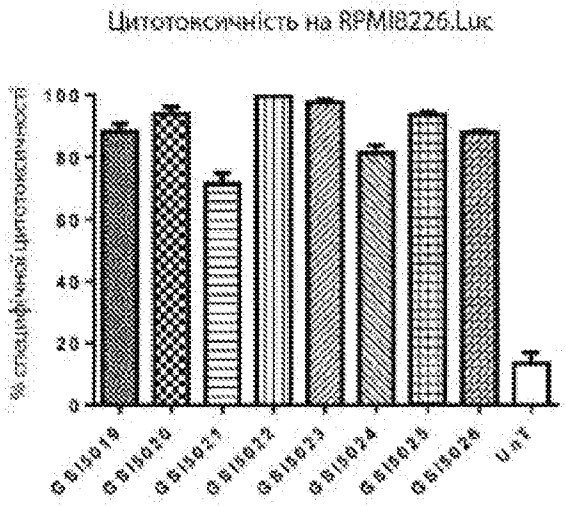
Фіг. 2C


Вивільнення IFNγ на K562.BCMA.Luc
Вивільнення IFNγ пікограма, пг/мл
8000
6000
4000
2000
0

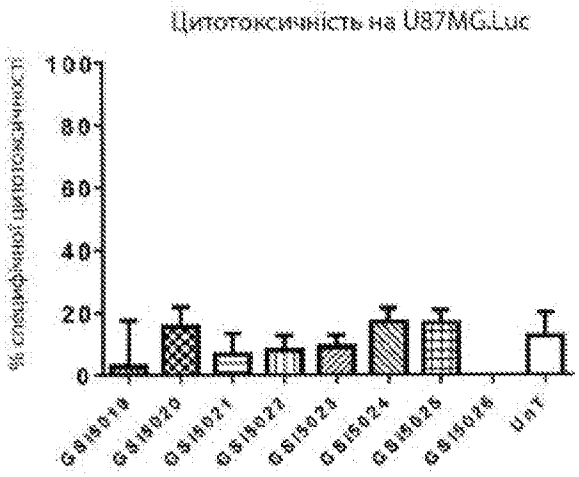
Фіг. 3


Цитотоксичність на RPMI8226-Luc
% специфічної цитотоксичності
100
80
60
40
20
0
GSI5011
GSI5014
GSI5015
UnT

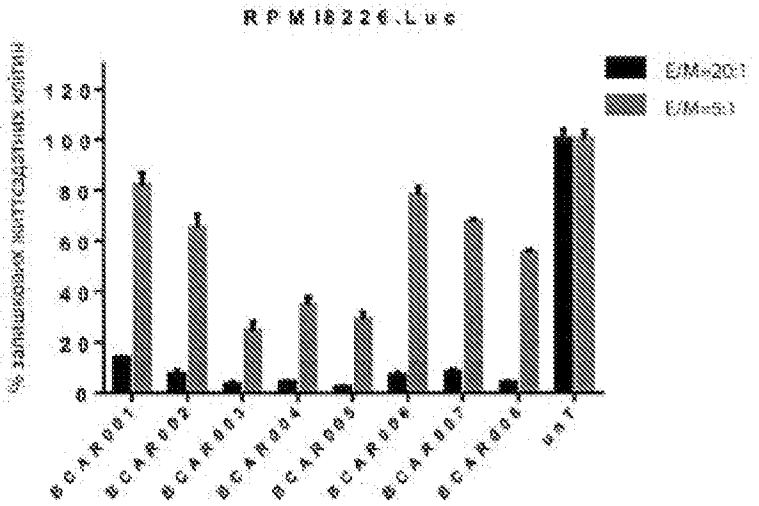
Фіг. 4А


Цитотоксичність на RPMI8226.Luc
% специфічної цитотоксичності
100
80
60
40
20
0
G515019
G515020
G515021
G515022
G515023
G515024
G515025
G515026
UnT

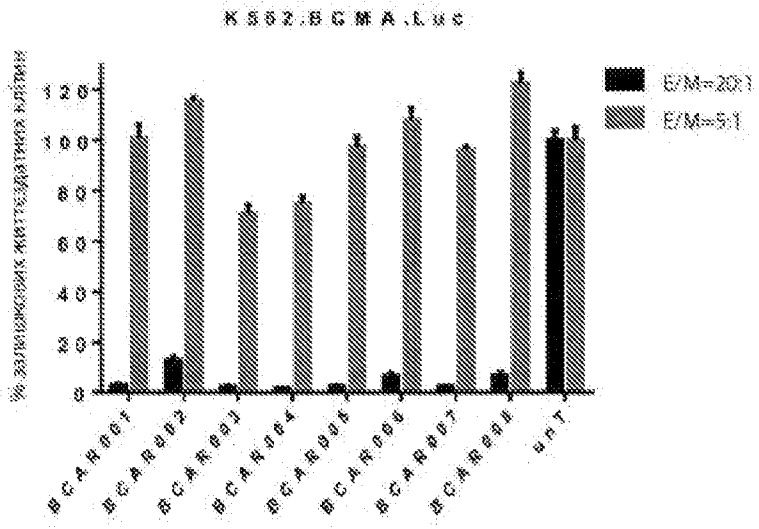
Фіг. 4B


Цитотоксичність на U87MG.Luc
% специфічної цитотоксичності
100
80
60
40
20
0
G515019
G515020
G515021
G515023
G515024
G515025
G515026
UnT

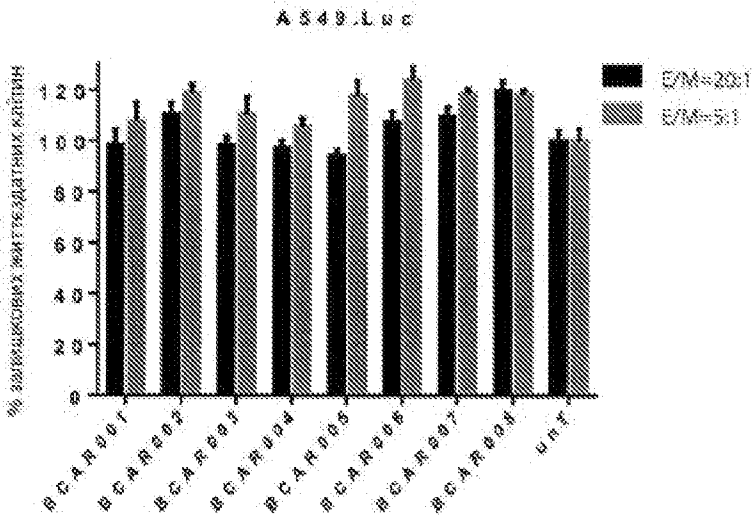
Фіг. 4C


RPMI8226.Luc
E/M=20:1
E/M=5:1
BCAR001
BCAR002
BCAR003
BCAR004
BCAR005
BCAR006
BCAR007
BCAR008
unT

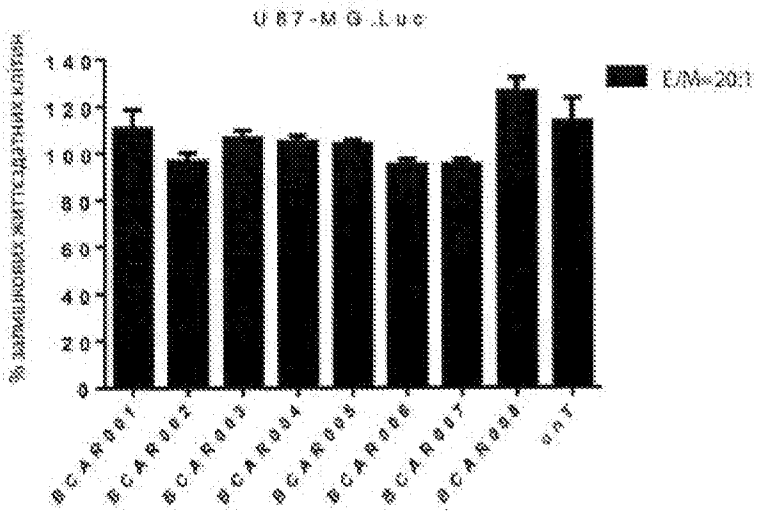
Фіг. 5A


K562.BCMA.Luc
E/M=20:1
E/M=5:1
BCAR001
BCAR002
BCAR003
BCAR004
BCAR006
BCAR005
BCAR007
BCAR008
unT

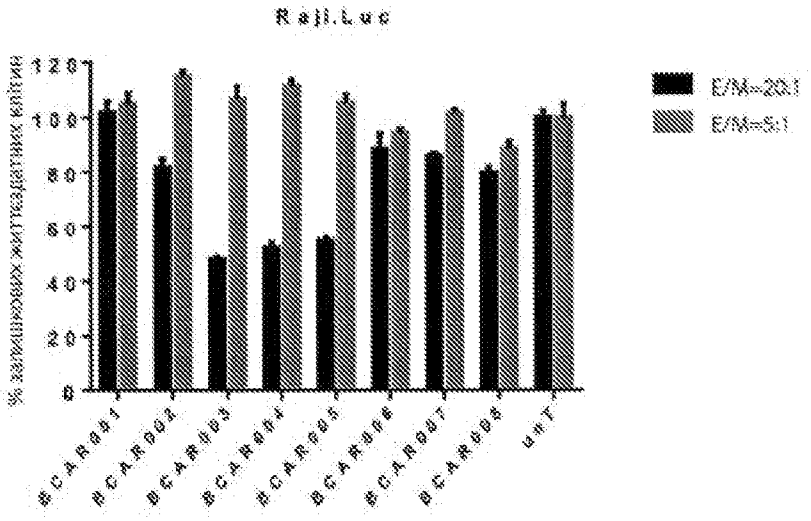
Фіг. 5B


A549.Luc
% залишкових життєздатних клітин
E/M=20:1
E/M=5:1
0
20
40
60
80
100
120
BCAR001
BCAR002
BCAR003
BCAR004
BCAR005
BCAR006
BCAR007
BCAR008
unT

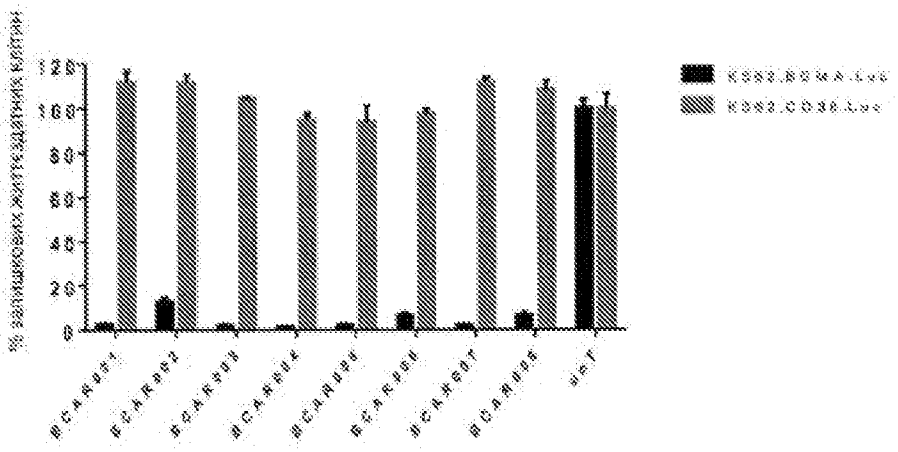
Фіг. 5C


U87-MG.Luc
% залишкових життєздатних клітин
E/M=20:1
0
20
40
60
80
100
120
140
BCAR001
BCAR002
BCAR003
BCAR004
BCAR005
BCAR006
BCAR007
BCAR008
unT

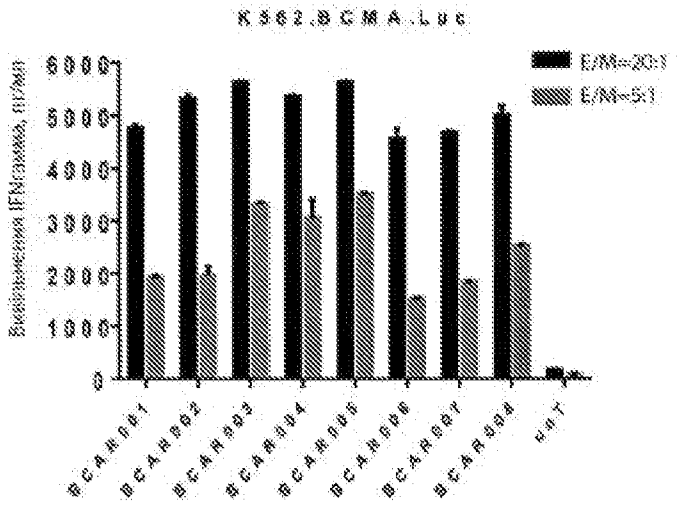
Фіг. 5D


Raji.Luc
E/M=20:1
E/M=5:1
120
100
80
60
40
20
0
βCAR01
βCAR02
βCAR03
βCAR04
βCAR05
βCAR06
βCAR07
βCAR08
UNT

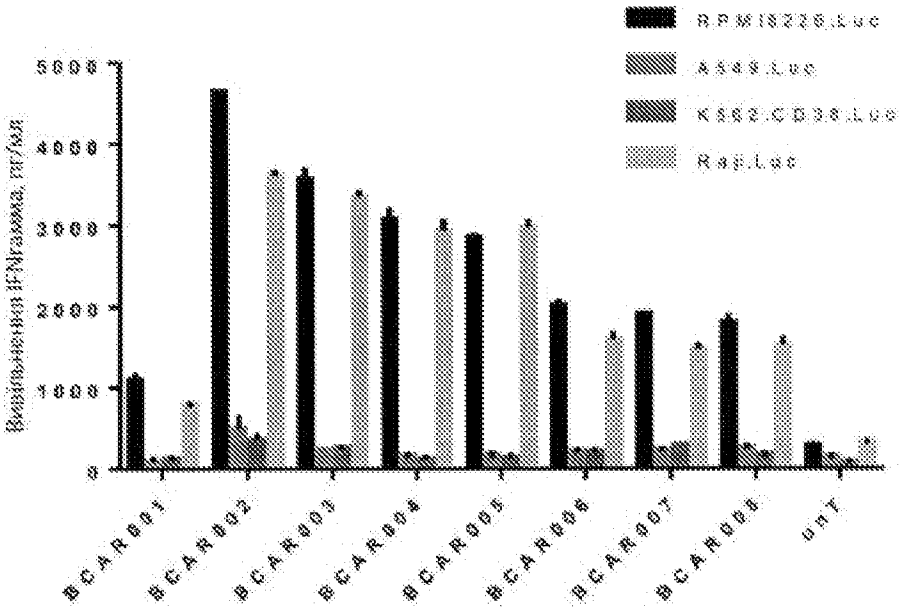
Фіг. 5E


K562.BCMA.Luc
K562.CD38.Luc
120
100
80
60
40
20
0
βCAR01
βCAR02
βCAR03
βCAR04
βCAR05
βCAR06
βCAR07
βCAR08
UNT

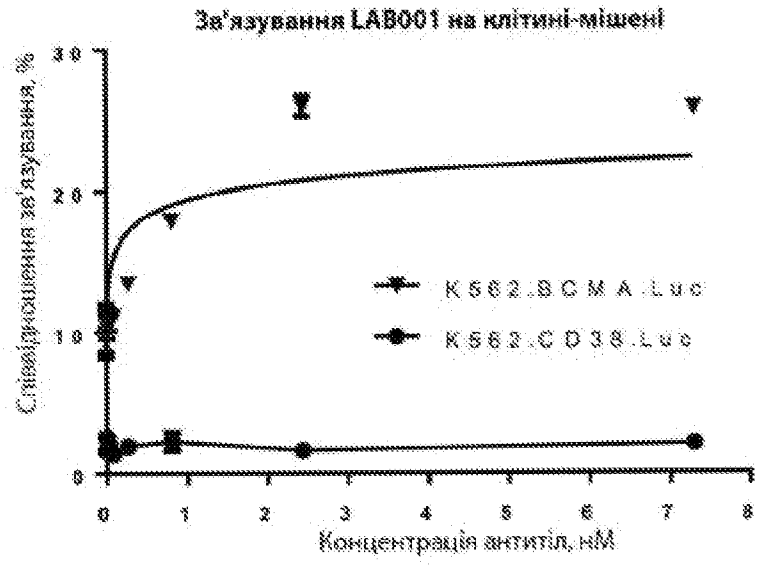
Фіг. 5F


K562.BCMA.Luc
E/M=20:1
E/M=5:1
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
BCAR001
BCAR002
BCAR003
BCAR004
BCAR005
BCAR006
BCAR007
BCAR008
unT

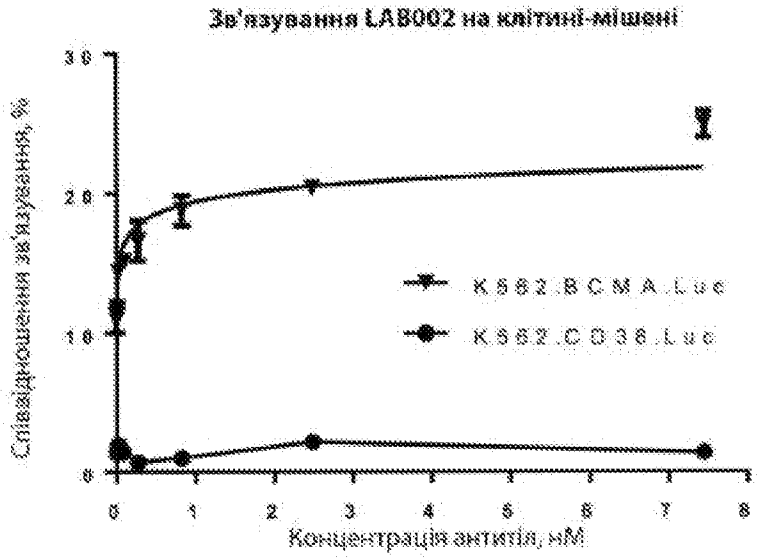
Фіг. 6A


RPMI8226.Luc
A549.Luc
K562.CD38.Luc
Raji.Luc
5000
4000
3000
2000
1000
0
BCAR001
BCAR002
BCAR003
BCAR004
BCAR005
BCAR006
BCAR007
BCAR008
unT

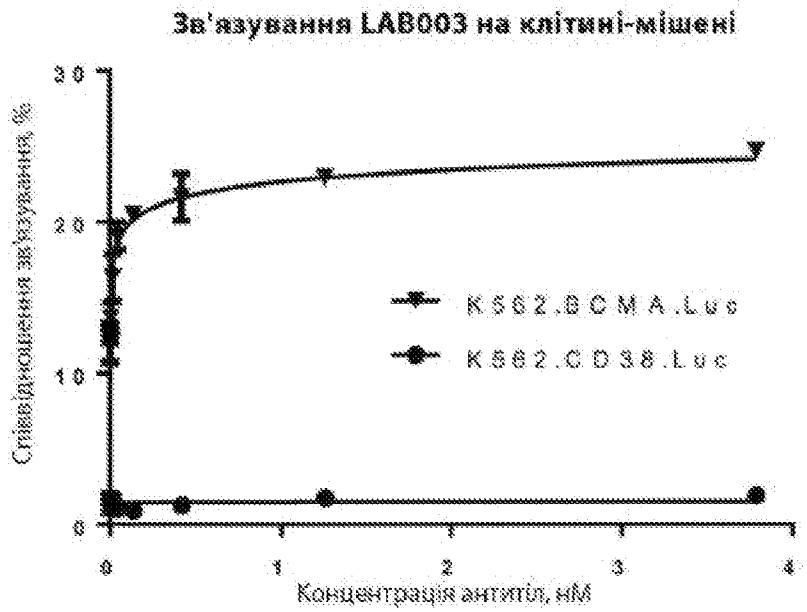
Фіг. 6B


Зв'язування LAB001 на клітині-мішені
Співвідношення зв'язування, %
30
20
10
0
K562.BCMA.Luc
K562.CD38.Luc
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Концентрація антитіл, нМ

Фіг. 7A

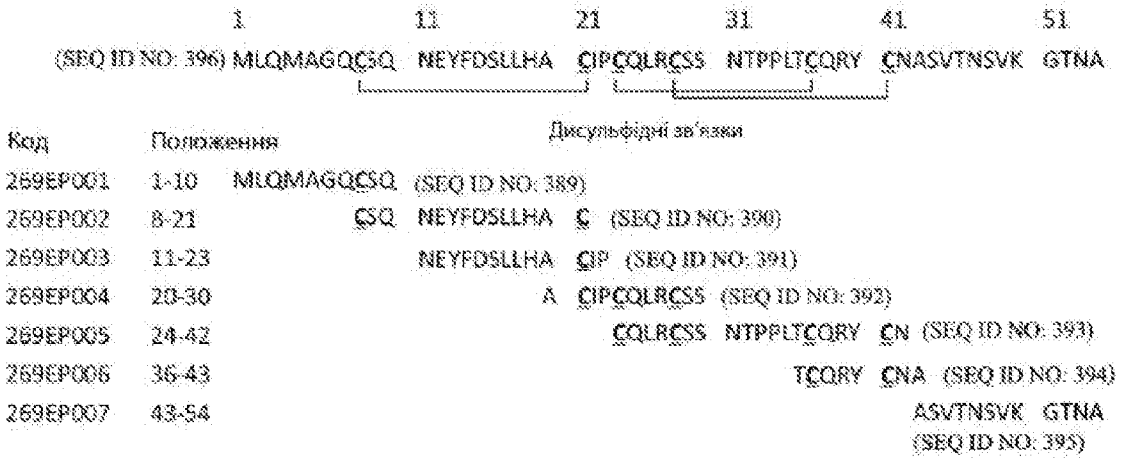

Зв'язування LAB002 на клітині-мішені
Співвідношення зв'язування, %
30
20
10
0
K562.BCMA.Luc
K562.CD38.Luc
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Концентрація антитіл, нМ

Фіг. 7B

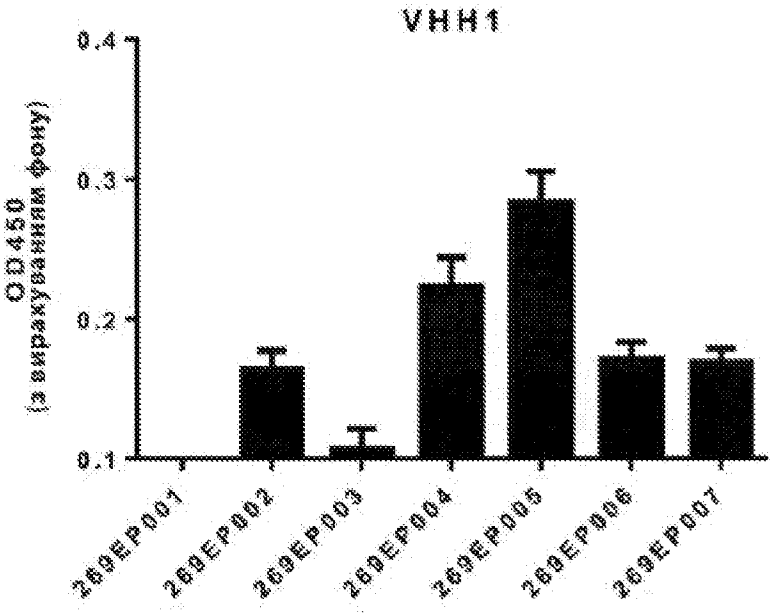


Фіг. 7C

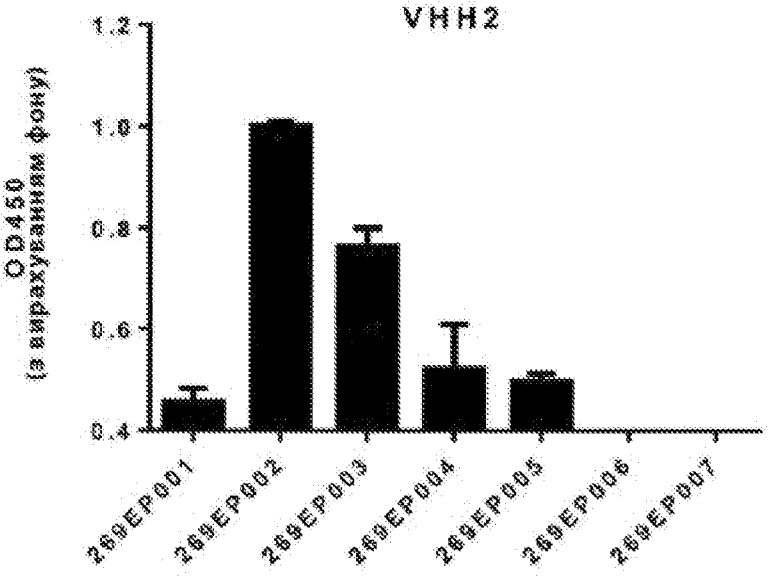
Фіг. 8A



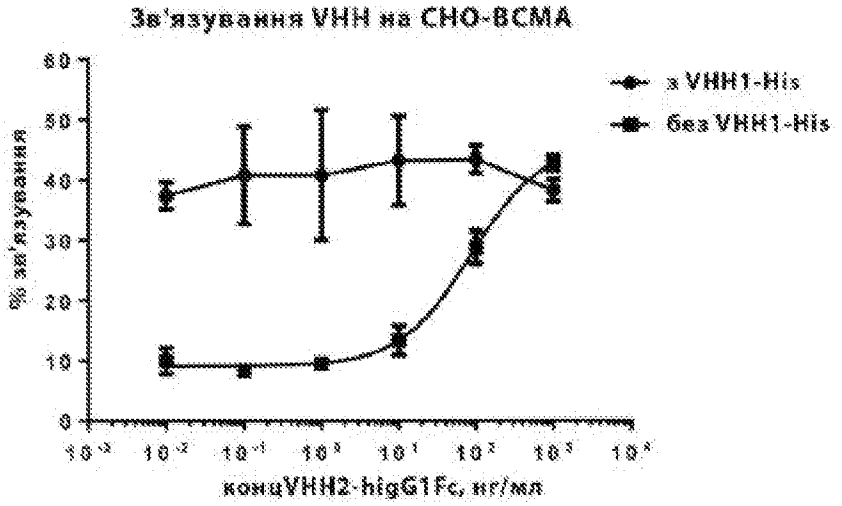
Фіг. 8B


VHH1
OD450
(з вирахуванням фону)
0.4
0.3
0.2
0.1
269EP001
269EP002
269EP003
269EP004
269EP005
269EP006
269EP007

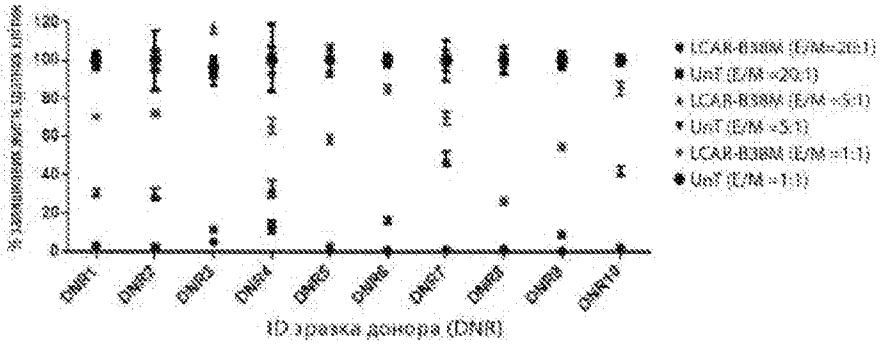
Фіг. 9A


VHH2
OD450
(з вирахуванням фону)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
269EP001
269EP002
269EP003
269EP004
269EP005
269EP006
269EP007

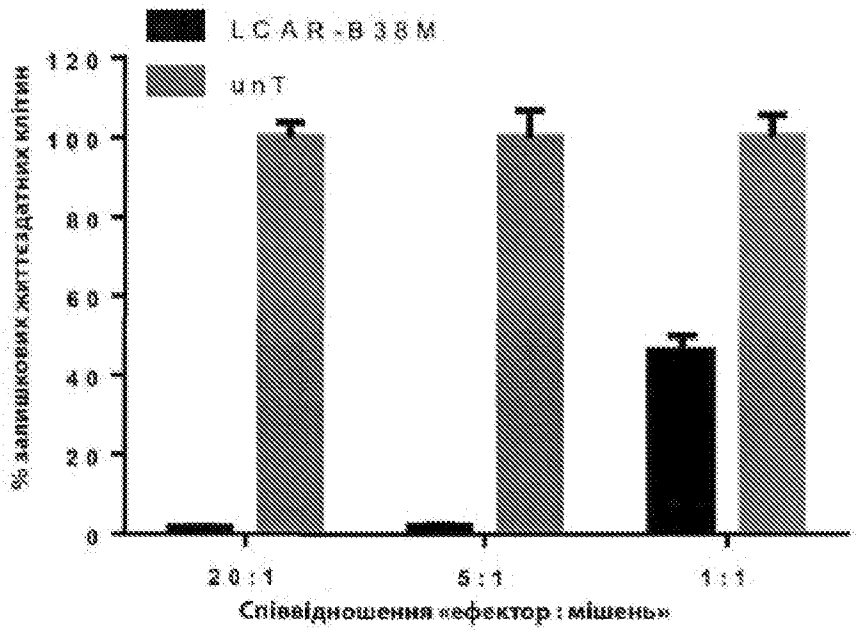
Фіг. 9B


Зв'язування VHH на CHO-BCMA
з VHH1-His
без VHH1-His
% зв'язування
концVHH2-higG1Fc, нг/мл

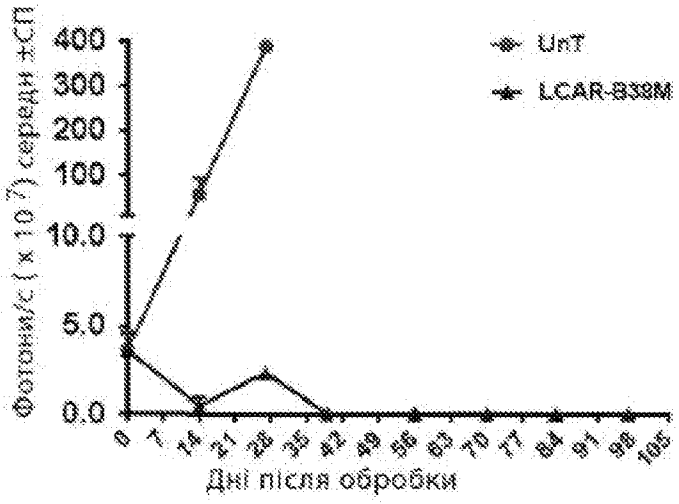
Фіг. 10


ID зразка донора (DNR)

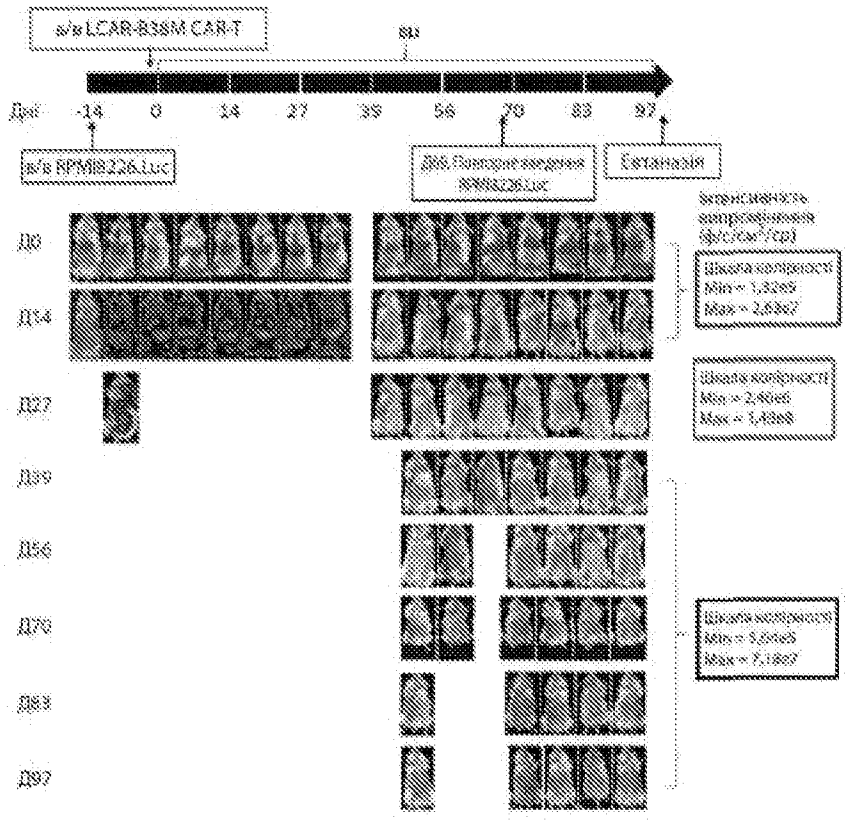
Фіг. 11



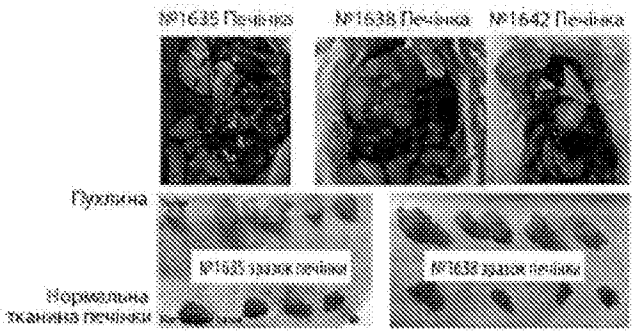
Фіг. 12A



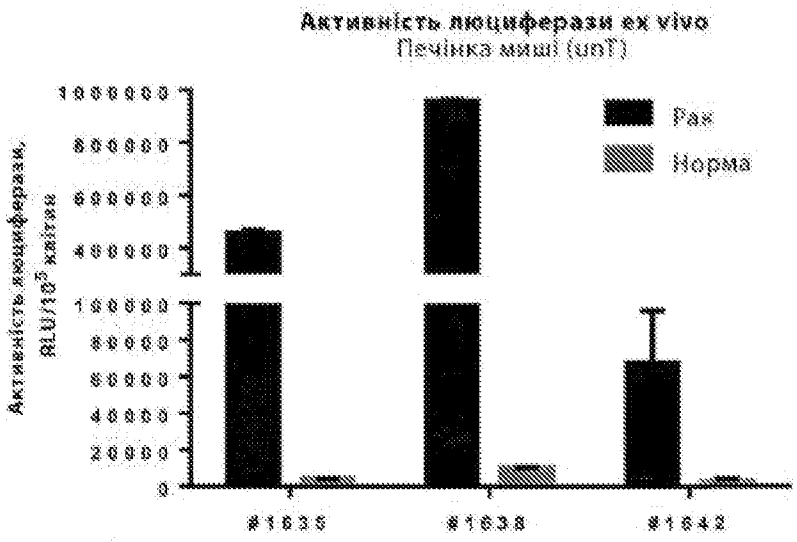
Фіг. 12B



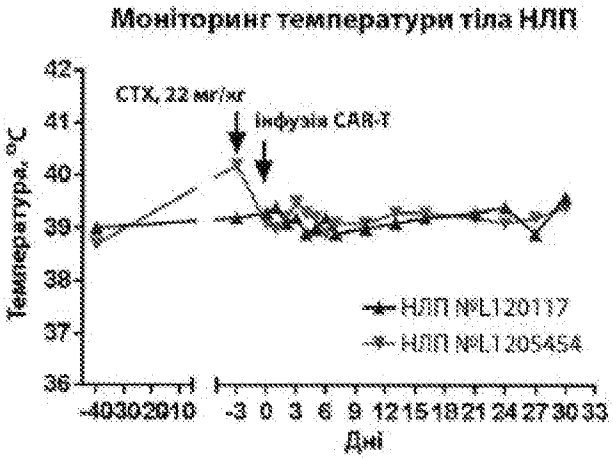
Фіг. 12C



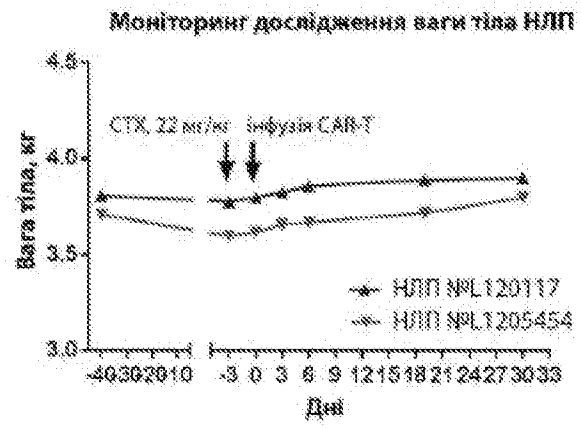
Фіг. 12D



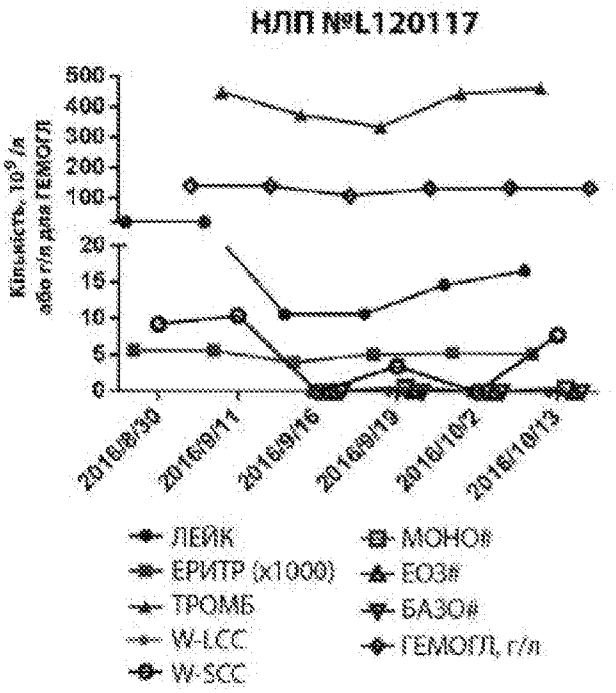
Фіг. 12E



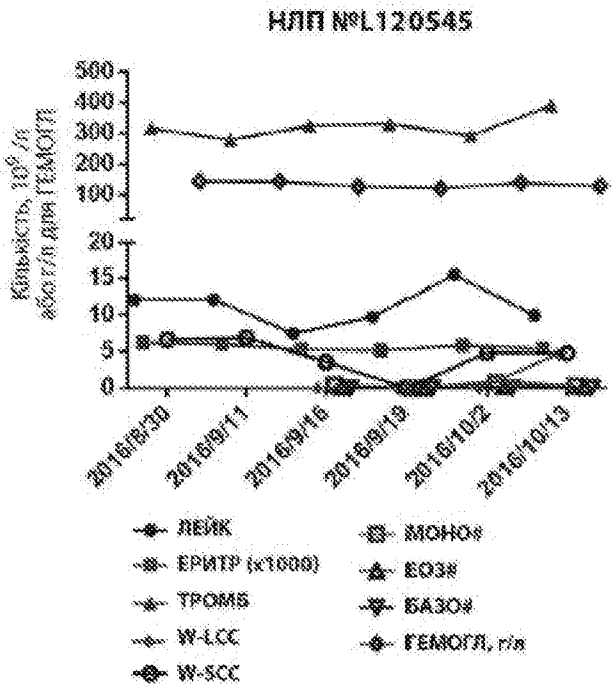
Фіг. 13A



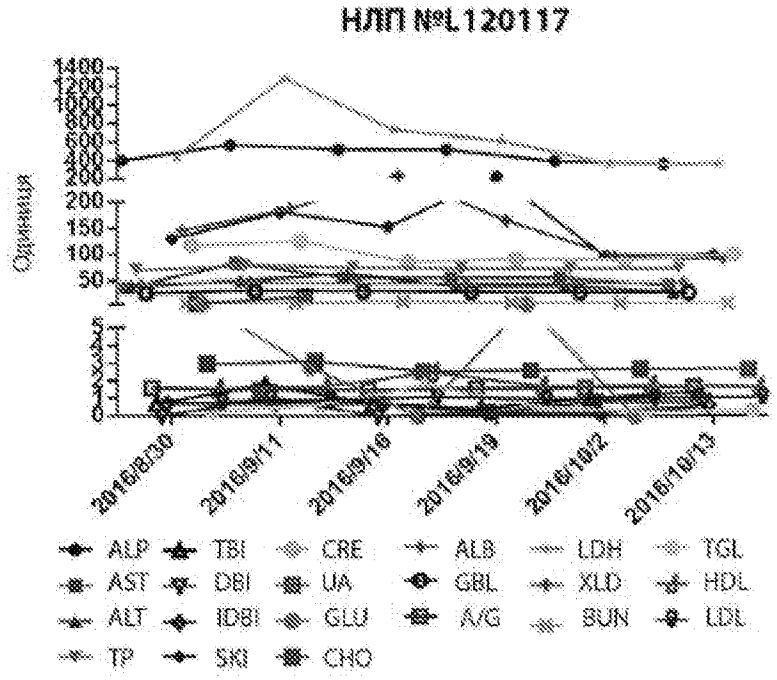
Фіг. 13B



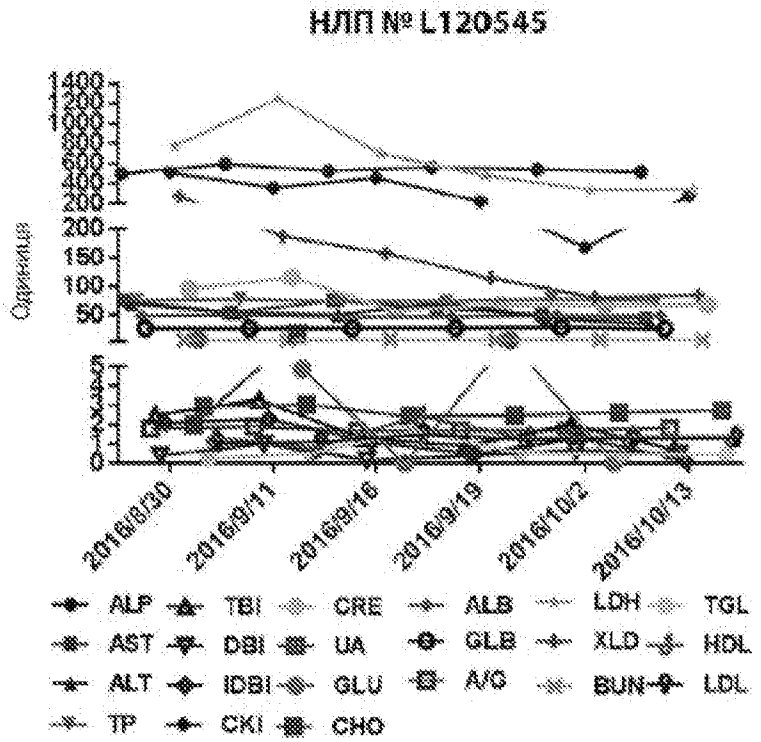
Фіг. 13C



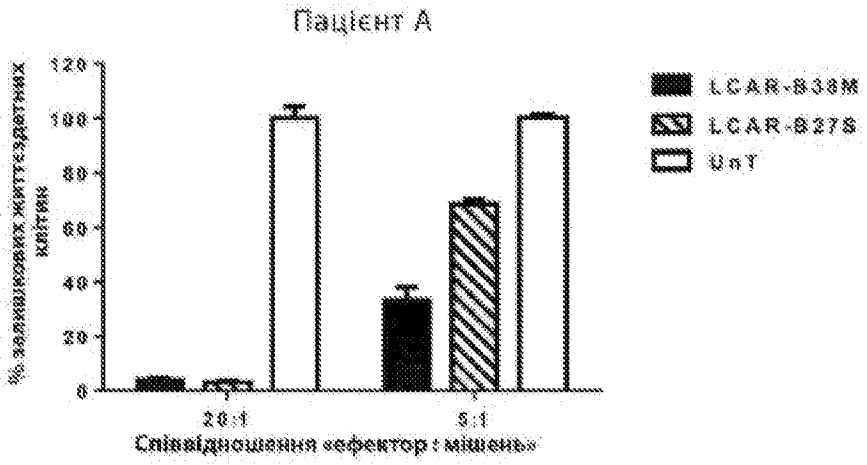
Фіг. 13D



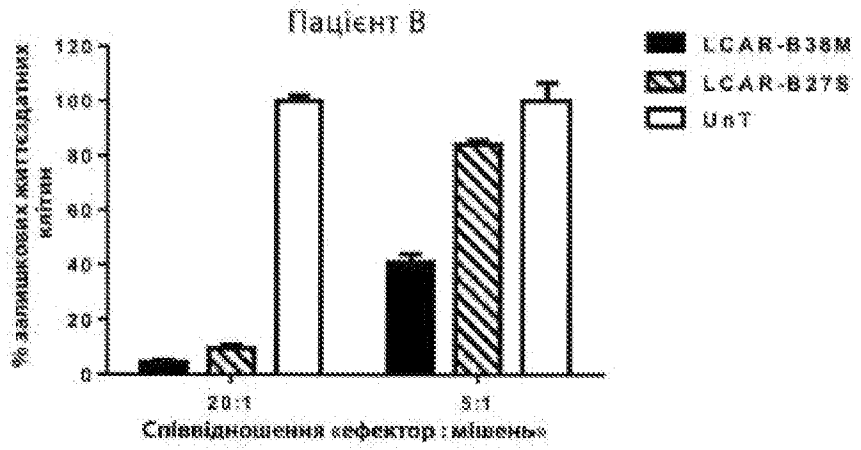
Фіг. 13E



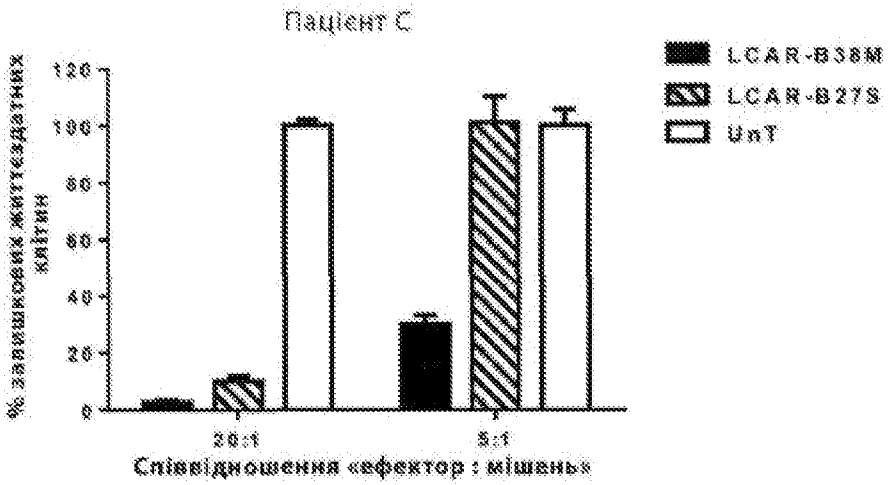
Фіг. 13F



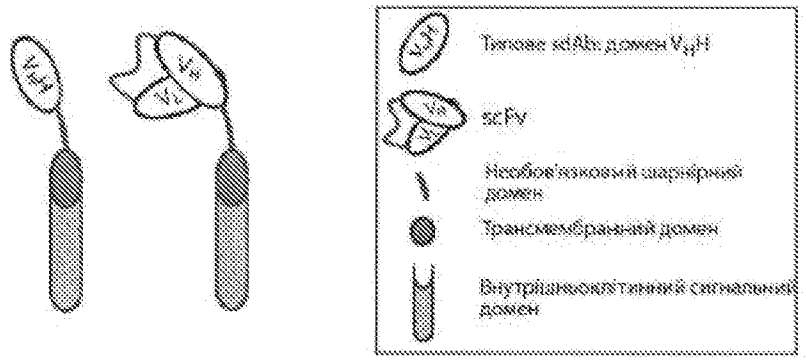
Фіг. 14A



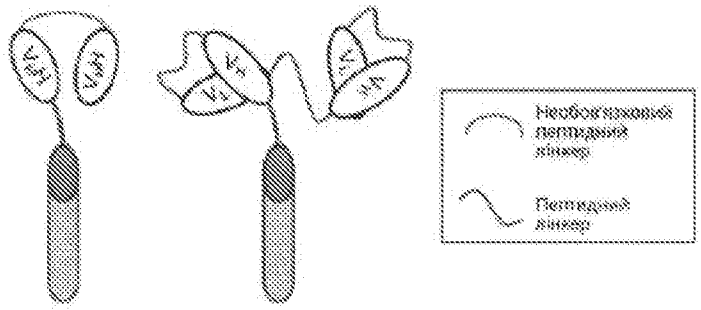
Фіг. 14B



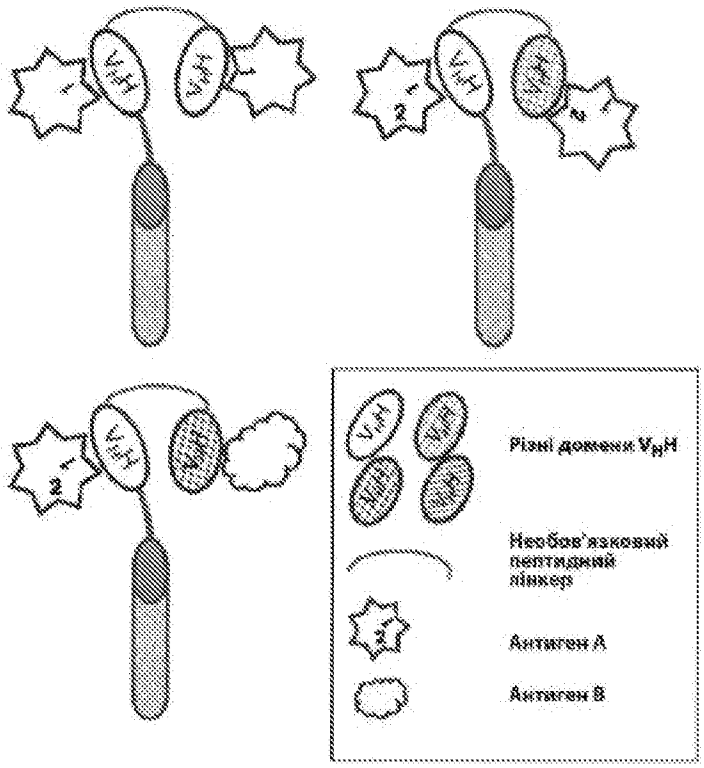
Фіг. 14C



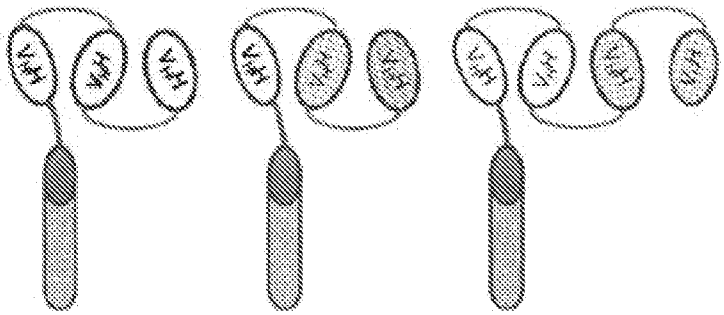
Фіг. 15A



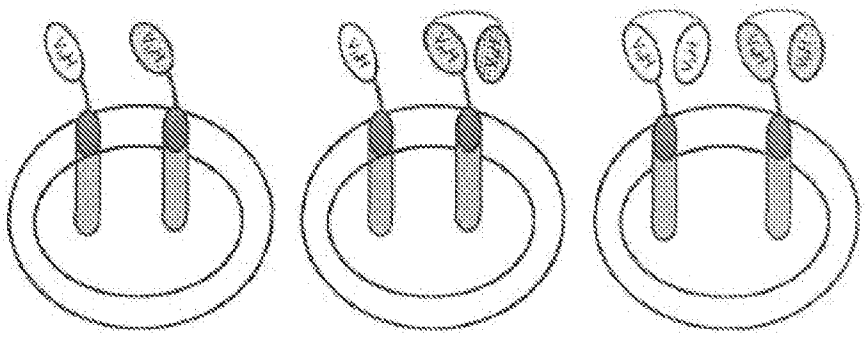
Фіг. 15B



Фіг. 15C



Фіг. 15D



Фіг. 15E

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601