



(19) **UA** (11) **71 553** (13) **C2**
(51)МПК ⁷ **C 07K 7/08, A 61K 38/16,**
38/10, C 07K 14/00, A 61P 3/04

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
УКРАИНЫ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ УКРАИНЫ

(21), (22) Заявка: 2000042495, 28.09.1998

(24) Дата начала действия патента: 15.12.2004

(30) Приоритет: 29.09.1997 US 08/940,095

(46) Дата публикации: 15.12.2004

(86) Заявка РСТ:
РСТ/US98/20327, 19980928

(72) Изобретатель:

Дассе Жан-Луи, US,
Зекуль Ренате, DE,
Буттнер Клаус, DE,
Корню Изабелль, DE,
Метц Гунтер, DE,
Дюфурк Жан, FR

(73) Патентовладелец:

Дассе Жан-Луи, US,
Зекуль Ренате, DE,
Буттнер Клаус, DE,
Корню Изабелль, DE,
Метц Гунтер, DE,
Дюфурк Жан, FR

(54) АГОНИСТЫ АПОЛИПОПРОТЕИНА А-I И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ,
СВЯЗАННЫХ С ДИСЛИПИДЕМИЕЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к агонисту аполипопротеина А-I (АроА-I), представляющего собой пептид или пептидный аналог, который содержит от 15 до 29 аминокислотных остатков, и образует амфипатическую А-спираль в присутствии липидов. Соединения имеют высокую агонистическую активность по отношению к аполипопротеину А-I и могут быть использованы для лечения дислипидемических нарушений. Описаны мультимерный агонист АроА-I, комплекс

агониста АроА-I и липида, фармацевтические композиции и способ лечения заболеваний, связанных с дислипидемией с использованием агонистов АроА-I.

Официальный бюллетень "Промышленная собственность". Книга 1 "Изобретения, полезные модели, топографии интегральных микросхем", 2004, N 12, 15.12.2004. Государственный департамент интеллектуальной собственности Министерства образования и науки Украины.



(19) **UA** (11) **71 553** (13) **C2**
(51) Int. Cl.⁷ **C 07K 7/08, A 61K 38/16,**
38/10, C 07K 14/00, A 61P 3/04

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF
UKRAINE

STATE DEPARTMENT OF INTELLECTUAL
PROPERTY

(12) **DESCRIPTION OF PATENT OF UKRAINE FOR INVENTION**

(21), (22) Application: 2000042495, 28.09.1998
(24) Effective date for property rights: 15.12.2004
(30) Priority: 29.09.1997 US 08/940,095
(46) Publication date: 15.12.2004
(86) PCT application:
PCT/US98/20327, 19980928

(72) Inventor:
Dasse Jean-Louis, US,
Zecul Renate, DE,
Buttner Klaus, DE,
Cornu Isabelle, DE,
Metz Hunter, DE,
Dufourc Jean, FR

(73) Proprietor:
Dasse Jean-Louis, US,
Zecul Renate, DE,
Buttner Klaus, DE,
Cornu Isabelle, DE,
Metz Hunter, DE,
Dufourc Jean, FR

(54) **AGONISTS OF APOLIPOPROTEIN A-I AND THEIR USE FOR TREATMENT OF DISORDERS ASSOCIATED WITH DYSLIPIDEMIA**

(57) Abstract:

Invention relates to agonist of ApoA-I including peptide or peptide analogue comprising from 15 to 29 amino acid residues that forms amphipathic A-helix in the presence of lipids. Compounds show high agonistic activity with respect to apolipoprotein A-I and can be used for treatment of diseases associated with dyslipoproteinemia. Invention describes multiple agonist of ApoA-I, complex of agonist of ApoA-I

and lipid, pharmaceutical compositions comprising compounds proposed and method for treatment using agonists of ApoA-I.

Official bulletin "Industrial property". Book 1 "Inventions, utility models, topographies of integrated circuits", 2004, N 12, 15.12.2004. State Department of Intellectual Property of the Ministry of Education and Science of Ukraine.



(19) **UA** (11) **71 553** (13) **C2**
(51)МПК ⁷ **C 07K 7/08, A 61K 38/16,**
38/10, C 07K 14/00, A 61P 3/04

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ

(12) ОПИС ВІНАХОДУ ДО ПАТЕНТУ УКРАЇНИ

(21), (22) Дані стосовно заявки:
2000042495, 28.09.1998

(24) Дата набуття чинності: 15.12.2004

(30) Дані стосовно пріоритету відповідно до Паризької
конвенції : 29.09.1997 US 08/940,095

(46) Публікація відомостей про видачу патенту
(деклараційного патенту): 15.12.2004

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки
відповідно до договору РСТ:
PCT/US98/20327, 19980928

(72) Винахідник(и):

Дассе Жан-Луї , US,
Зекуль Ренате , DE,
Буттнер Клаус , DE,
Корню Ізабелль , DE,
Метц Гунтер , DE,
Дюфурк Жан , FR

(73) Власник(и):

Дассе Жан-Луї , US,
Зекуль Ренате , DE,
Буттнер Клаус , DE,
Корню Ізабелль , DE,
Метц Гунтер , DE,
Дюфурк Жан , FR

(54) АГОНІСТИ АПОЛІПОПРОТЕЇНА А-І ТА ЇХ ВИКОРИСТАННЯ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ,
ПОВ'ЯЗАНИХ З ДИСЛІПІДЕМІЄЮ

(57) Реферат:

Винахід стосується агоніста аполіпопротеїну
А-І (АроА-І), що включає пептид або пептидний
аналог, який містить від 15 до 29 амінокислотних
залишків, який утворює амфіпатичну А-спіраль в
присутності ліпідів. Сполуки мають високу
агоністичну активність у відношенні до

аполіпопротеїну А-І та можуть бути використані
для лікування дисліпідемічних порушень. Описані
мультимерний агоніст АроА-І, комплекс агоніста
АроА-І і ліпиду, фармацевтичні композиції та
спосіб лікування захворювань, пов'язаних з
дисліпідемією з використанням агоністів АроА-І.

Опис винаходу

1. Вступ

Даний винахід стосується використання композицій агоністів аполіпопротеїна А-I (АроА-I) для лікування захворювань, асоційованих з дисліпопротеїнемією, включаючи гіперхолестеринемію, серцево-судинні захворювання, атеросклероз, рестеноз і інші захворювання, такі як септичний шок.

2. Передумови для винаходу

Циркулюючий в організмі холестерин переноситься плазматичними ліпопротеїнами - комплексними частками, що складаються з білка і ліпіда, які забезпечують транспорт ліпідів в крові. Низькомолекулярні ліпопротеїни (LDL) і високомолекулярні ліпопротеїни (HDL) є основними переносниками холестерину. Вважається, що LDL є критичним чинником доставки холестерину з печінки (де він синтезується або з'являється з харчових джерел) у "позапечінкові" тканині тіла. Термін "оборотний транспорт холестерину" характеризує транспорт холестерину з "позапечінкових" тканин зворотно в печінку, де він катаболізується і елімінується. Вважається, що частки плазматичних HDL грають визначальну роль в процесі оборотного транспорту, діючи по типу "прибиральника" тканинного холестерину.

Доказів зв'язку між підвищенням рівня сироваткового холестерину з ішемічною хворобою серця безліч. Наприклад, атеросклероз є повільно прогресуючим захворюванням, що характеризується накопиченням холестерину в тканині стінки судини. Зіставлення наявних доказів підтверджує концепцію, відповідно до якої ті, що відкладаються в атеросклеротичних бляшках ліпіди є первинними продуктами плазматичних LDL: це пояснює популярне позначення LDL як "поганого холестерину". З іншого боку, рівень сироваткових HDL зворотно пропорційно корелює з ішемічною хворобою серця - дійсно, високий рівень сироваткових HDL розглядається як її негативний чинник ризику. Передбачається, що високий рівень плазматичного HDL є не тільки чинником захисту від ішемічної хвороби серця, але ще і може зумовлювати розсмоктування атеросклеротичних бляшок (наприклад, див. Badimon et al., 1992, Circulation, 86, suppl. I11, 86-94). Таким чином, традиційно HDL називають "хорошим холестерином".

2.1. Транспорт холестерину

Система транспорту ліпідів може бути поділена на дві підсистеми (механізми): екзогенна підсистема, призначена для холестерину і тригліцеридів, що всмоктуються через стінки кишечника, і ендогенна підсистема, призначена для холестерину і тригліцеридів, що попадає в кров'яне русло з печінки і інших "позапечінкових" тканин.

В екзогенній підсистемі харчові ліпіди упаковуються в ліпопротеїнові частки, які називаються хіломікронами, які попадають в кров'яне русло і переносять ті, що містяться в них тригліцериди в жирову тканину (для накопичення) і до м'язів (для окислення з виділенням енергії). Залишки хіломікронів, що містять ефір холестерину, видаляються з крові за рахунок активності специфічних рецепторів, що знаходяться на поверхні гепатоцитів. Такий холестерин потім стає доступним знову для клітинного метаболізму або для повторного перенесення у "позапечінкові" тканині у вигляді плазматичних ліпопротеїнів.

В ендогенній підсистемі печінка секретує велику частку екстранизкомолекулярного ліпопротеїна (VLDL) в кров'яне русло. Основу часток VLDL складають в основному тригліцериди, що синтезуються в печінці при наявності невеликої кількості ефіру холестерину (або синтезованих в печінці, або відновлених з хіломікронів). Двома переважаючими білками, що знаходяться на поверхні часток VLDL, є апопротеїн В-100 і апопротеїн Е. Коли VLDL досягає капілярів жирової тканини і м'язів, тригліцериди, що містяться в ньому екстрагуються з утворенням нового типу часток, що характеризуються зменшеним розміром і збагачених ефіром холестерину, але що зберігають обидва "своїх" апопротеїна ці частки називають середньомолекулярними ліпопротеїнами (IDL).

У людини приблизно половина часток IDL швидко вилучається з циркулюючої крові (протягом 2-6 годин після їх утворення), оскільки вони функціонально тісно пов'язані з клітинами печінки, які екстрагують холестерин з утворенням нових VLDL і жовчних кислот. Частки IDL, які не відбираються печінкою, залишаються в кров'яному руслі довше. У цей час апопротеїн Е відщеплюється від циркулюючих часток, перетворюючи їх в тип часток LDL, до складу яких входить єдиний білок -апопротеїн В-100.

Насамперед, печінка відбирає і розщеплює велику частину холестерину в жовчні кислоти, які є кінцевими продуктами в метаболізмі холестерину. Поглинання часток, що містять холестерин, опосередковується LDL-рецепторами, які присутні на поверхні гепатоцитів у великій кількості. Рецептор LDL зв'язує обидва апопротеїна -Е і В-100, - і відповідає за скріплення і вилучення і IDL, і LDL з крові. Однак, афінність апопротеїна Е відносно LDL-рецептора вище в порівнянні з афінністю апопротеїна В-100. Отже, частки LDL характеризуються більшою тривалістю життя в циркулюючій крові в порівнянні з частками IDL - LDL знаходяться в ній в середньому 2,5 дні перед скріпленням на LDL-рецепторах в печінці і інших тканинах.

Високі рівні сироваткового LDL ("поганий холестерин") позитивно корелюють з ішемічною хворобою серця. Наприклад, при атеросклерозі похідний від циркулюючих LDL холестерин нагромаджується в стінках артерій, що приводить до утворення бляшок, які порушують протік крові аж навіть до утворення тромбів, внаслідок чого просвіт артерії закривається, зумовлюючи серцевий приступ або удар.

Зрештою кількість внутрішньоклітинного холестерину, що вивільняється з LDL, є чинником контролю метаболізму клітинного холестерину. Накопичення клітинного холестерину, похідного від часток VLDL і LDL, контролює такі процеси: по-перше, воно зумовлює зниження інтенсивності синтезу клітинного холестерину за рахунок перемикання синтезу HMG-КоА-редуктази, що є ключовим ферментом в біосинтезі холестерину.

По-друге, притік похідного від LDL-часток холестерину забезпечує запасання холестерину з участю активуючої ACAT - клітинного ферменту, контролюючого конверсію холестерину в ефір холестерину, який і відкладається у вигляді жирових крапель. По-третє, накопичення холестерину в клітинах забезпечує роботу механізму по типу зворотного зв'язку, який придушує клітинний синтез нових LDL-рецепторів. Отже, клітини контролюють кількість своїх LDL-рецепторів на такому рівні, щоб кількість холестерину вистачала для покриття потреб метаболізму, але без його перевантаження (як огляд, див. Brown & Goldstein, 1990, "In Pharmacological Basis of Therapeutics", 8th ed., Goodman & Gilman, Pergamon Press, NY, Chapter 36, pp.874-896).

2.2. Оборотний транспорт холестерину

Загалом, периферичні (непечінкові) клітини отримують холестерин за рахунок поєднання місцевого синтезу і поглинання заздалегідь підготовленого стеролу з VLDL і LDL. З іншого боку оборотний транспорт холестерину (ОТХ) є механізмом, по якому холестерин периферичних клітин може бути повернений в печінку для повторного перенесення у "позапечінкові" тканині або екскреції в кишечник у вигляді жовчі, як в модифікованій формі, так і в окисленій формі (у вигляді жовчних кислот). Механізм ОТХ представляє єдиний шлях видалення холестерину з більшості "позапечінкових" тканин і є критичним для підтримки структури і функцій більшості клітин тіла.

Механізм ОТХ включає три базових етапи: (1) вихід холестерину, тобто початкове виділення холестерину з різних груп периферичних клітин; (2) етерифікація холестерину внаслідок активності ферменту лецитин/холестеринацилтрансфери (LCAT), що запобігає попаданню холестерину, що вийшов з клітин зворотно в ці клітини; і (3) поглинання і доставка HDL-асоційованого ефіру холестерину в гепатоцити. Механізм ОТХ опосередковується частками HDL. Термін "HDL" означає ліпопротеїнові частки, які характеризуються високою молекулярною масою. Основними ліпідними компонентами HDL-комплексів є різні фосфоліпіди, холестерин (ефір) і тригліцериди. Основними аполіпопротеїновими компонентами є A-I і A-II, які визначають функціональні характеристики HDL; також є невеликі кількості аполіпопротеїнів C-I, C-II, C-III, D, E, J і інші. Розміри HDL можуть в істотній мірі варіюватися і характеризуватися різним складом згаданих вище компонентів, що залежить від характеру участі в метаболічному каскаді процесу ОТХ.

Ключовим ферментом, залученим до механізму ОТХ, є фермент LCAT. Він в основному виробляється в печінці і циркулює в плазмі крові асоційовано з фракцією HDL.

Фермент LCAT конвертує клітинний холестерин в ефір холестерину, який виявляється в HDL, призначених для елімінації. Внесок в подальше перетворення популяції циркулюючих HDL вносять білки CETP (білок-переносник ефіру холестерину) і PLTP (білок-переносник фосфоліпідів). CETP може перенести ефір холестерину, утворений внаслідок активності LCAT, в інші ліпопротеїнові комплекси, зокрема в ApoB-включаючі ліпопротеїни, такі як VLDL і LDL. Білок PLTP забезпечує HDL лецитином. Ті, що входять в склад HDL тригліцериди можуть катаболізуватися з участю позаклітинної печінкової тригліцеридліпази, а вхідний в склад ліпопротеїнів холестерин видалється в печінці по різних механізмах.

Кожна частка HDL включає принаймні одну копію (а звичайно від двох до чотирьох копій) ApoA-I. ApoA-I синтезується печінкою і тонким кишечником у вигляді препропослідовності, яка секритується у вигляді прополіпептиду, який швидко зазнає процесинг з утворенням зрілого поліпептиду, що складається з 243 амінокислотних залишків. ApoA-I звичайно включає від 6 до 8 різних 22-амінокислотних повторів, розділених лінкером, в ролі якого часто виступає пролін, а в деяких випадках включає своєрідний мотив, складений декількома залишками. ApoA-I разом з ліпідами утворює три базових типи комплексів: невеликі комплекси з низьким вмістом ліпідів, що позначаються як "пре-B1-HDL", сплюснені дископодібні частки, що включають полярні ліпіди (фосфоліпіди і холестерин), що позначаються як "пре-B2-HDL"; і сферичні частки, що включають і полярні, і неполярні ліпіди, що позначаються як сферичні, або зрілі HDL (HDL₃ і HDL₂). Більшість HDL в циркулюючій популяції включають і ApoA-I, і ApoA-II (другий основний білок складу HDL): в даному тексті для них прийняте позначення "фракції AI/AII-HDL" в спільній популяції HDL. Однак, фракція HDL, в складі якої є тільки ApoA-I (в даному тексті означається як "фракція AI-HDL"), мабуть, є більш ефективною з точки зору механізму ОТХ. Деякі епідеміологічні дослідження підтверджують гіпотезу, відповідно до якої фракція AI-HDL є "антиатерогенною" (Parra et al., 1992, Arteriosclerosis & Thrombosis, 12, 701-707; Decossin et al., 1997, Eur. J.Clin. Invest., 27, 299-307).

Хоча механізм перенесення холестерину з клітинної поверхні (тобто "вихід холестерину з клітин") невідомий, вважається, що комплекс з низьким змістом ліпідів, тобто "пре-B1-HDL", є переважним акцептором для холестерину, переносимого від периферичних тканин в механізмі ОТХ (див. Davidson et al., 1994, J. Biol. Chem., 269, 22975-22982; Bielicki et al., 1992, J.Lipid Res., 33, 1699-1709; Rothblat et al., 1992, J.Lipid Res., 33, 1091-1097; Kawano et al., 1993, Biochemistry, 32, 5025-5028; Kawano et al., 1997, Biochemistry, 36, 9816-9825). У ході процесу вилучення холестерину з клітинних поверхонь пре-B1-HDL-частки швидко конвертуються в частки пре-B2-HDL. Білок PLTP може збільшувати швидкість утворення дископодібних часток пре-B2-HDL, однак дані про роль цього білка-переносника в ОТХ відсутні. Фермент LCAT переважно активний у відношенні дископодібних і сферичних HDL, переносячи 2-ацильну групу лецитина або інших фосфоліпідів на вільний гідроксил в молекулі холестерину з утворенням складних ефірів холестерину (що залишаються в складі HDL) і лізолецитина. У реакції, що контролюється LCAT, в якості активатора необхідна участь ApoA-I: тобто ApoA-I є природним кофактором ферменту LCAT. Конверсія холестерину в його складний ефір, що залишається в HDL, запобігає зворотному попаданню холестерину в клітини, внаслідок чого ефір холестерину призначається до видалення. Ефіри холестерину в зрілих частках HDL у фракції AI-HDL (тобто включаючи ApoA-I, але не маючи ApoA-II) віддаляються печінкою і процесуються в жовч більш ефективно, ніж той матеріал, який міститься в HDL-фракції, що включає і ApoA-I, і ApoA-II. Це, принаймні частково, може пояснюватися більш ефективним скріпленням часток AI-HDL на мембранах гепатоцитів. Раніше вже передбачалося існування HDL-рецептора, і

недавно рецептор-помічник SR-BI був ідентифікований як такий HDL-рецептор (Acton et al., 1996, Science, 271, 518-520; Xu et al., 1997, Lipid Res., 38, 1289-1298). Рецептор SR-BI в найбільшій кількості експресований в стероїдогенних тканинах (наприклад, в наднирках) і в печінці (Landshuiz et al., 1996, J.Clin. Invest., 98, 984-995; Rigotti et al., 1996, J.Biol. Chem., 271, 33545-33549).

Як передбачається, білок-переносник CETP не грає істотної ролі в процесі ОТХ, але при цьому залучений до метаболізму ліпідів, похідних від VLDL і LDL. Однак, зміни активності CETP або його акцепторів - VLDL і LDL - грають роль в процесах перетворення популяції HDL. Наприклад, у відсутність CETP частки HDL перетворюються в укрупнені частки, що не підлягають видаленню (див. огляди по ОТХ і HDL: Fielding & Fielding, 1995, J.Lipid Res., 36, 211-228; Barrans et al, 1996, Biochem. Biophys. Acta, 1300, 73-85; Hirano et al, 1997, Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biol, 17, 1053-1059).

2.3. Сучасні способи лікування дисліпопротейнемії

В цей час доступними є ряд способів лікування, націлених на зниження рівнів сироваткових холестерину і тригліцеридів (див, наприклад, Brown & Goldstein, цит. вище). Однак, для кожного з цих способів характерні "свої" обмеження і складності з точки зору їх ефективності, виникнення побічних ефектів і придатності для конкретної групи пацієнтів.

Зв'язуючі жовчну кислоту полімери представляють клас лікарських засобів, які переривають повторне повернення жовчних кислот з тонкого кишечника в печінку -наприклад, холестирамін (Questran Light®, Bristol-Myers Squibb) і холестипола гідрохлорид (Colestid®, Upjohn Co.). При пероральному введенні ці полімери, що характеризуються позитивним зарядом, зв'язуються в кишечнику з негативно зарядженими жовчними кислотами. Оскільки такі полімери не можуть всмоктуватися з просвіту кишечника, то вони виводяться з організму разом з пов'язаними на них жовчними кислотами. Однак, використання таких полімерів щонайбільше знижує рівень сироваткового холестерину до приблизно 20% і при цьому асоціюється з виникненням побічних ефектів в травному тракті, включаючи запори і виникнення дефіциту по деяких вітамінам. Більш того оскільки ці полімери зв'язують і інші лікарські препарати, інші медикаменти, що вводяться перорально повинні вводитися не менш ніж за 1 годину або ж через 4-6 годин після введення такого полімеру: таким чином, ускладнюється режим прийому ліків пацієнтами-сердечниками.

Понижуючими рівень холестерину засобами є статини: ці сполуки блокують синтез холестерину внаслідок придушення активності HMG-KoA-редуктази - ключового ферменту в біосинтетичному шляху холестерину. Статини, наприклад, ловастатин (Mevacor, Merck & Si. Inc.) і правастатин (Pravacholo, Bristol-Myers Squibb Co.), іноді використовуються в поєднанні з полімерами, зв'язуючими жовчні кислоти. Статини в істотній мірі знижують рівень сироваткового холестерину і вмісту LDL в сироватці крові, забезпечуючи зниження прогресії ішемічної хвороби серця. Однак, рівень сироваткових HDL збільшується лише в середній мірі. Механізм ефекту зниження кількості LDL може залучати і зниження концентрації VLDL, і індукцію експресії клітками LDL-рецептора, внаслідок чого знижується вироблення і (або) посилюється катаболізм LDL. З використанням цих лікарських засобів асоційовані такі побічні ефекти, як дисфункція печінки і нирок (Physicians Desk Ref., Med. Economics Co. Inc., Montvale, NJ, 1997). Нещодавно федеральне агентство США представило на ринок препарат аторвастатин (інгібітор HMG-KoA-редуктази, розроблений фірмою Parke-Davis, Warner Lambert), призначений для лікування рідкісних, але вимагаючих інтенсивного втручання випадків сімейної гіперхолестеринемії(1995, Scrip, 20 [19], 10).

Нікотинова кислота (ніацин) є водорозчинним В-вітамінним комплексом, що використовується як харчова добавка і антигіперліпідемічний засіб. Ніацин зумовлює придушення вироблення VLDL і ефективний в зниженні LDL. У деяких випадках він застосовується разом з полімерами, зв'язуючими жовчні кислоти. Ніацин при використанні його в адекватних дозах може збільшувати вміст HDL, однак його застосування обмежується сильними побічними виявами при призначенні таких високих доз.

Фібрати являють собою клас лікарських засобів, що забезпечують зниження рівня ліпідів, призначених для лікування різних форм гіперліпідемій (наприклад, випадків підвищення рівня сироваткових тригліцеридів), які також можуть бути асоційовані з гіперхолестеринемією. Вважається, що фібрати зумовлюють зниження вмісту фракції VLDL і істотне підвищення HDL - однак, вплив цих препаратів на рівень сироваткового холестерину виявляється непостійним. У Сполучених Штатах Америки фібрати дозволені для використання в якості антиліпідемічних засобів, однак, як засоби проти гіперхолестеринемії, вони не сертифіковані. Наприклад, клофібрат (Atromid-S®, Wyeth-Ayerst Lab.) є антиліпідемічним засобом, який зумовлює (по поки не встановленому механізму) зниження сироваткових тригліцеридів за рахунок придушення фракції VLDL. Хоча рівень сироваткового холестерину може бути знижений у деяких груп пацієнтів, біохімічна реакція на цей препарат виявляється різною, і при цьому не завжди можна передбачити, ким з пацієнтів будуть досягнуті найбільш ефективні результати. Як було показано, препарат Atromid-S® не виявляє ефективності відносно ішемічної хвороби серця. Споріднений по хімічних і фармакологічних властивостях лікарський засіб - гемфіброзил (Lopid®, Parke-Davis), - є препаратом, регулюючим вміст ліпідів, який в середній мірі збільшує пов'язаний з HDL холестерин - тобто збільшується вміст фракції HDL₂ і HDL₃, рівно як і фракції, що включає і ApoA-I, і ApoA-II (тобто фракції AI/AII-HDL). Однак, "ліпідна відповідь" виявляється різноманітною, особливо при порівнянні різних груп пацієнтів. Більше за те, оскільки профілактика ішемічної хвороби серця спостерігалася в групі чоловіків у віці 40-55 років, в яких ішемічної хвороби не було і немає в момент дослідження, то незрозуміло, в якій мірі можна екстраполювати ці дані на інші групи пацієнтів (наприклад, на жінок і більш молодих чоловіків). Дійсно, не було досягнуто скільки-небудь значущого ефекту відносно групи пацієнтів з ішемічною хворобою серця. Застосування фібратів супроводжується серйозними побічними ефектами - наприклад, токсичністю, пов'язаною із злоякісними пухлинами (особливо такими як рак травного

тракту), захворюваннями жовчного міхура і збільшенням рівня смертності від причин, не пов'язаних з серцевою діяльністю. - Ці лікарські засоби не застосовуються в лікуванні пацієнтів, в яких єдиною аномалією метаболізму жирів є підвищений вміст LDL або знижений вміст HDL (Physicians Desk Ref., Med. Economics Co. Inc., Montvale, NJ, 1997).

Терапія на основі перорального заміщення естрогенів може бути застосована у випадках гіперхолестеринемії середнього ступеня у жінок в постклімактеричний період. Однак, збільшення вмісту HDL може супроводжуватися збільшенням рівня тригліцеридів. Лікування естрогенами, звичайно, обмежене конкретною групою пацієнтів (жінки після клімаксу) і пов'язане з виявом серйозних побічних ефектів, включаючи індукцію злоякісних новоутворень, захворювання жовчного міхура, тромбоемболію, аденому печінки, підвищений артеріальний тиск, непереносимість глюкози і гіперкальціємію.

Таким чином, є необхідність в розробці більш безпечних лікарських засобів, які б були ефективні в зниженні рівня сироваткового холестерину, збільшенні вмісту HDL в сироватці крові, профілактиці ішемічної хвороби серця і (або) лікуванні такої хвороби, що вже є, а особливо атеросклерозу.

2.4. ApoA-I, як мішень

Жоден з доступних в цей час лікарських засобів, призначених для зниження рівня холестерину, не забезпечує безпечного підвищення рівня HDL і стимулювання ОТХ - тобто не працює на рівні механізми транспорту холестерину, модулювання його надходження з їжею, повторного включення в цикл, синтезу холестерину і утворення популяції VLDL.

Оскільки бажаним є створити лікарські засоби, які б стимулювали вихід холестерину і його видалення, а також через наявність декількох потенційних мішеней в системі ОТХ - таких як LCAT, HDL і їх різних компонентів (ApoA-I, ApoA-II і фосфоліпіди), PLTP і CETP, то невідомо, яка з цих мішеней буде найбільш ефективною з точки зору досягнення бажаного складу ліпопротеїнів і захисного ефекту. Зміна будь-якого одного компонента в механізмі ОТХ неминуче приведе до зміни складу циркулюючих ліпопротеїнів і, відповідно, вплине на ефективність ОТХ.

Деякі доказові дані, що засновуються на моделях *in vivo*, вказують на HDL і на його базовий компонент, яким є ApoA-I, як на чинники запобігання атеросклеротичним пошкодженням і потенційного розсмоктування бляшок, тобто роблять їх привабливими мішенями для терапевтичного втручання. По-перше, є зворотна кореляційна залежність між вмістом в сироватці ApoA-I (HDL) і процесів атерогенезу у чоловіків (Gordon & Rifkind, 1989, New England J.Med., 321, 1311-1316; Gordon et al., 1989, Circulation, 79, 8-15). Дійсно, був встановлений взаємозв'язок між окремими варіантами HDL і ризиком розвитку атеросклерозу у людини (Miller, 1987, Amer. Heart, 113, 589-597; Cheung et al., 1991, Lipid Res., 32, 383-394; Fruchart & Ailhaud, 1992, Clin. Chem., 38, 79).

По-друге, дослідження на тваринних моделях підтверджують захисну роль ApoA-I (HDL). Лікування кроликів, раціон яких включав холестерин, шляхом введення ApoA-I або HDL приводило у таких тварин до придушення розвитку і прогресування бляшок (жирового нашарування) (Koizumi et al., 1988, J.Lipid Res., 29, 1405-1415; Badimon et al., 1989, Lab. Invest, 60, 455-461; Badimon et al., 1990, J.Clin. Invest, 85, 1234-1241). Однак, ефективність такого лікування варіювалася в залежності від джерела HDL (Beitz et al., 1992, Prostaglandins, Leukotrienes & Essential Fatty Acids, 47, 149-152; Mezdoor et al., 1995, Atherosclerosis, 113, 237-246).

По-третє, прямий доказ ролі ApoA-I був отриманий в експериментах на трансгенних тваринах. Експресія людського гена, що кодує ApoA-I, перенесеного мишам, генетично схильних до атеросклерозу, що індукується харчовими компонентами, забезпечувала захист від пошкоджень аорти (Rubin et al., 1991, Nature, 353, 265-267). Трансген ApoA-I також, як було показано, придушує атеросклероз у мишей, що характеризуються дефіцитом апопротеїна E, і у мишей, трансгенних по Apo(a) (Pasztly et al., 1994, J.Clin. Invest, 94, 899-903; Plump et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 9607-9611; Liu et al, 1994, J.Lipid Res, 35, 2263-2266). Схожі результати були отримані при вивченні трансгенних кроликів, експресуючих ApoA-I людини (Duverger, 1996, Circulation, 94, 713-717; Duverger et al, 1996, Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biol, 16, 1424-1429), і трансгенних пацюків, в яких підвищені рівні людського ApoA-I забезпечували захист від атеросклерозу і придушення рестеноза, можливого внаслідок проведення судинопластики (Burkey et al, 1992, Circulation, suppl. I, 86, 1-472, Abstr. 1876; Burkey et al, 1995, J.Lipid Res, 36, 1463-1473).

У механізмі ОТХ більш ефективним представляється ApoA-I в порівнянні з фракцією AI/AII-HDL. Дослідження, проведені на трансгенних мишах, несучих гени ApoA-I або ApoA-I+ApoA-II (AI/AII) людини, показали, що білковий склад HDL в істотній мірі впливає на його вияви - при цьому більш істотний антиатерогенний ефект був характерний для AI-HDL в порівнянні з AI/AII-HDL (Schultz et al., 1993, Nature, 365, 762-764). Паралельні дослідження з використанням трансгенних мишей, експресуючих ген LCAT людини, показали, що деяке зростання активності LCAT значною мірою змінює рівні пов'язаного з ліпопротеїнами холестерину і що LCAT володіє виразною перевагою по відношенню до фракції HDL, що включає ApoA-I (Francone et al., 1995, J.Cin. Invest, 96, 1440-1448; Berard et al., 1997, Nature Med., 3 [7], 744-749). При тому, що ці дані підтверджують важливу роль ApoA-I в активації LCAT і стимуляції механізму ОТХ, додаткові дослідження вказують на наявність більш складного сценарію: основними компонентами, які забезпечують зміну виходу клітинного холестерину, є фосфоліпіди (Fournier et al., 1996, J.Lipid Res., 37, 1704-1711).

З точки зору вірогідної ролі HDL, а по суті і самого ApoA-I, і асоційованого з ним фосфоліпіда, в захисті від атеросклерозу, були здійснені клінічні випробування з використанням рекомбінантного ApoA-I, які були припинені і потім відновлені в UCB, Бельгія (Pharmacoprojects, 27 жовтня 1995р.; IMS R & D Focus, 30 червня 1997р.; Drug Status Update, 1997, Atherosclerosis, 2, 261-265; також див. M.Eriksson, "The role of HDL in disease prevention". Congress, 7-9 Nov., 1996, Fort Worth; Lacko & Miller, 1997, J.Lipid Res., 38, 1267-1273; і

міжнародна патентна заявка WO 94/13819), а також проводилися і були потім припинені Bio-Tech (Pharmascope, 7 квітня 1989р.). Також робилися випробування, в яких ApoA-I використовували для лікування септичного шоку (Opal, "Reconstituted HDL as a Treatment Strategy for Sepsis", IBC's 7th Intern. Conf. on Sepsis, April 28-30, 1997, Washington, DC; Gouni et al., 1993, J.Lipid Res., 94, 139-146; Levine, міжнародна патентна заявка WO 96/04916). Однак, все це зв'язане з існуванням різних "пасток", пов'язаних з отриманням і застосуванням ApoA-I, які роблять його, м'яко кажучи, неідеальним лікарським засобом: наприклад, ApoA-I є великим білком, отримання якого трудомістке і недешеве; повинні бути подолані значні проблеми виробництва і відновлювальності в зв'язку із забезпеченням стабільності в процесі його зберігання, доставки активного компонента і часу напівжиття in vivo.

Беручи до уваги ці проблеми, і були зроблені спроби сформувати пептиди, які б імітували активність ApoA-I. Оскільки ключовою для вияву активності ApoA-I є наявність множинних повторів унікальної вторинної організації цього білка -амфіпатичної А-спіралі А-класу (Segrest, 1974, FEBS Lett., 38, 247-253), - то основні зусилля при конструюванні пептидів, які б імітували активність ApoA-I, були зосереджені на створенні молекул, які б і утворювали такі амфіпатичні А-спіралі А-класу.

Амфіпатичні А-спіралі А-класу є унікальними в тому, що залишки позитивно заряджених амінокислот кластеризовані в зоні гідрофобно-гідрофільного "інтерфейсу" (тобто зіткнення двох типів поверхонь білка), а залишки негативно заряджених амінокислот сконцентровані на поверхні гідрофільного сегмента. Далі, пептиди, які мають А-спіраль А-класу характеризуються величиною гідрофобного кута, меншою 180° (Segrest et al., 1990, Proteins: Structure, Function & Genetics, 8, 103-117). Початкові нові стратегії конструювання імітаторів ApoA-I не засновувалися на первинних амінокислотних послідовностях що зустрічаються в природі аполіпопротеїнів, але базувалися на включенні цих унікальних спіралей А-класу до складу послідовності пептидних аналогів, рівно як і деяких інших властивостей доменів, що є в складі ApoA-I (див., наприклад, Davidson et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93, 13605-13610; Rogers et al., 1997, Biochemistry, 36, 288-300; Lins et al., 1993, Biochim. Biophys. Acta, Biomembranes, 1151, 137-142; Ji & Jonas, 1995, J.Biol. Chem., 270, 11290-11297; Collet et al., 1997, J.Lipid Res., 38, 634-644; Sparrow & Gotto, 1980, Ann. NY Acad. Sci., 348, 187-211; Sparrow & Gotto, 1982, CRC Crit. Rev. Biochem., 13, 87-107; Sorci-Thomas et al., 1993, J.Biol. Chem., 268, 21403-21409; Wang et al., 1996, Biochem. Biophys. Acta, 174-184; Minnich et al., 1992, J.Biol. Chem., 267, 16553-16560; Holvoet et al., 1995, Biochemistry, 34, 13334-13342; Sorci-Thomas et al., 1997, J.Biol. Chem., 272, 7278-7284; Frank et al., 1997, Biochemistry, 36, 1798-1806).

В одному з досліджень Фукусіма з співавт. (Fukushima et al.) синтезували 22-амінокислотний пептид, що повністю складається із залишків Glu, Lys і Leu, взаєморозташованих таким чином, щоб утворювати амфіпатичну А-спіраль з рівними гідрофільною і гідрофобною поверхнями (тобто "ELK-пептид") (Fukushima et al., 1979, J.Amer. Chem. Soc., 101, 3703-3704; Fukushima et al., 1980, J.Biol. Chem., 255, 10651-10657). ELK-пептид характеризується 41%-ою гомологією з ділянкою амінокислот 198-219 в складі поліпептиду ApoA-I. При проведенні аналізу методом кількісної ультрафільтрації, гель-хроматографії і кругового дихроїзму для цих ELK-пептидів було продемонстроване ефективне асоціювання з фосфоліпідами і забезпечення імітації деяких фізичних і хімічних властивостей ApoA-I (Kaiser et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 1137-1140; Kaiser et al., 1984, Science, 223, 249-255; Fukushima et al., 1980, цит. вище; Nakagawa et al., 1985, J.Amer. Chem. Soc., 107, 7087-7092). За результатами такого аналізу Іокояма з співавт. дійшли висновку, що критичним чинником забезпечення активності ферменту LCAT є проста присутність великої амфіпатичної структури (Yokoyama et al., 1980, J.Biol. Chem., 255, 7333-7339). Пізніше було виявлене, що димер такого 22-амінокислотного пептиду в більшій мірі імітує властивості ApoA-I в порівнянні з відповідним мономером: ґрунтуючись на отриманих даних було підтверджено, що такий 44-амінокислотний пептид, який уривається в своїй середині "брейкером спіралі" (або гліцином, або проліном), являє собою мінімальний функціональний домен білка ApoA-I (Nakagawa et al., 1985, цит. вище).

В інших дослідженнях як модель використали амфіпатичні пептиди, названі "LAP-пептидами" (Pownall et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 3154-3158; Sparrow et al., 1981, "In Peptides: Synthesis-Structure-Function", eds. Roch & Gross, Pierce Chem. Co, Rockford, IL, pp.253-256). Ґрунтуючись на параметрах скріплення ліпідів з фрагментами нативних аполіпопротеїнів, були сконструйовані декілька LAP-пептидів, позначених LAP-16, LAP-20 і LAP-24 (включають, відповідно, 16, 20 і 24 амінокислотних залишків). Ці модельні амфіпатичні пептиди не виявляють схожості послідовності з аполіпопротеїнами і були сконструйовані так, щоб мати гідрофільні поверхні, організовані відмінно від таких поверхонь, що є в складі амфіпатичних спіралей А-класу в аполіпопротеїнів (Segrest et al., 1992, J.Lipid Res., 33, 141-166). Виходячи з даних цих досліджень, автори роботи дійшли висновку, що наявність 20 амінокислот є мінімально необхідною для забезпечення властивостей по скріпленню з ліпідами при моделюванні амфіпатичних пептидів.

Дослідження, проведені на матеріалі мутантних варіантів LAP20, в яких залишок проліну займав в амінокислотній послідовності різні положення, показали, що є прямий взаємозв'язок між скріпленням ліпідів і активацією LCAT, але при цьому ще і те, що сам по собі спіральний потенціал такого пептиду не викликає активації ферменту LCAT (Ponsin et al., 1986, J.Biol. Chem., 261, 9202-9205). Більше того присутність такого "брейкера спіралі" (пролін) поблизу від середини даного пептиду знижує його афінність стосовно фосфоліпідів, рівно як і здатність активувати LCAT. При тому, що деякі LAP-пептиди, як було показано, зв'язуються з фосфоліпідами (Sparrow et al., цит. вище), проте залишається спірним питання про ту міру, з якою LAP-пептиди зберігають спіральну організацію в присутності ліпідів (Buchko et al., 1996, J.Biol. Chem., 271, 3039-3045; Zhong et al., 1994, Peptide Res., 7, 99-106).

Segrest з співавт. синтезували пептиди, що складаються з 18-24 амінокислот, які не виявляють гомології зі

спіральними ділянками ApoA-I (Kannelis et al., 1980, J.Biol. Chem., 255, 11464-11472; Segrest et al., 1983, J.Biol. Chem., 258, 2290-2295). Конкретні послідовності були сконструйовані таким чином, щоб імітувати амфіпатичні спіральні домени А-класу аполіпопротеїнів по таких параметрах, як гідрофобний момент (Eisenberg et al., 1982, Nature, 299, 371-374) і розподіл заряду (Segrest et al., 1990, Proteins, 8, 103-117; патент США №4643988). Один з 18-амінокислотних пептидів, позначений як "пептид-18А", був сконструйований як модель А-спіралі А-класу (Segrest et al., 1990, цит. вище). Дослідження на матеріалі таких пептидів і пептидів, що характеризуються протилежними параметрами заряду, таких як "пептид-18К", виразно показали, що розподіл заряду є критичним для функціональності параметром: пептиди з ревертованим розподілом заряду виявляють знижену афінність відносно пептидів в порівнянні з імітаторами 18А А-класу і меншу спіральну складову в присутності ліпідів (Kannelis et al., 1980, J.Biol. Chem., 255, 11464-11473; Anantharamaiah et al., 1985, J.Biol. Chem., 260, 10248-10255; Chung et al., 1985, J.Biol. Chem., 260, 10256-10262; Epand et al., 1987, J.Biol. Chem., 262, 9389-9396; Anantharamaiah et al., 1991, Adv. Exp. Med. Biol, 285, 131-140).

Інші синтетичні пептиди, що не мають схожості з амінокислотою послідовністю аполіпопротеїнів, які були представлені і мали "менший успіх", включають димери і тримери пептиду 18А (Anantharamaiah et al., 1986, Proteins Biol. Fluids, 34, 63-66), пептиди GALA і EALA (Subbarao et al., 1988, Proteins: Structure, Function & Genet, 3, 187-198) і пептиди ID (Labeur et al., 1997, Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biol, 17, 580-588) і пептид 18АМ4 (Brasseur et al., 1993, Biochim. Biophys. Acta, 1170, 1-7).

Також на базі амінокислотної послідовності спіралей ApoA-I людини був сконструйований "консенсусний" пептид, що складається з 22 амінокислот (Anantharamaiah et al., 1980, Arteriosclerosis, 10, 95-105; Venkatachalapathi et al., 1991, Mol. Conform, and Biol. Interact., Ind. Acad. Sci., ser. Y, 585-596). Пептид був сконструйований з урахуванням ідентифікації найбільш переважного залишку по кожному положенню гіпотетичних спіралей в складі ApoA-I. Як і у випадку з описаними вище пептидами, спіраль, що утворюється даним пептидом, характеризується наявністю кластера позитивно заряджених амінокислот по центру гідрофільної поверхні і величиною гідрофобного кута менше за 180°. При тому, що димер такого пептиду в деякій мірі ефективний по активації LCAT, відповідний мономер виявляє слабкі властивості по скріпленню ліпідів (Venkatachalapathi et al., 1991, цит. вище).

Ґрунтуючись насамперед на дослідженнях *in vitro*, проведених на матеріалі описаних вище пептидів, були сформульовані деякі "правила" конструювання пептидів, які б імітували функції білка ApoA-I. Істотним є те, що наявність амфіпатичної А-спіралі, що має позитивно заряджені залишки, кластеризовані в області гідрофобно-гідрофільного "інтерфейсу", і негативно заряджені амінокислоти, кластеризовані по центру гідрофільної поверхні, необхідно для вияву ліпідної афінності і активації LCAT (Venkatachalapathi et al., 1991, цит. вище). Також Anantharamaiah з співавт. встановили, що негативно заряджені залишки глутамінової кислоти в 13-му положенні в складі консенсусного 22-амінокислотного пептиду, який знаходиться в межах гідрофобної поверхні А-спіралі, грає важливу роль в активації LCAT (Venkatachalapathi et al., 1991, цит. вище). Більш того Brasseur показав, що гідрофобний кут (кут "rho") менше за 180° є необхідною умовою для оптимальної стабільності ліпиду і аполіпопротеїна, а також для утворення дископодібних часток, в яких пептиди розташовані навколо краю ліпідного бі-шару (Brasseur, 1991, J.Biol. Chem., 66, 16120-16127). Rosseneu з співавт. також продемонстрували, що гідрофобний кут менше за 180° необхідний для активації ферменту LCAT (заявка WO 93/25581).

Однак, незважаючи на визначення даних "правил", не вдалося сконструювати і виробити пептид, який був би так же активний, як і ApoA-I - в найкращому варіанті була відзначена менш ніж 40%-а від нативного ApoA-I активність, що було визначено в описаному в даній заявці тесті на активацію LCAT. Жоден з описаних в науковій літературі пептидних міметиків не підходив для застосування його в якості лікарського засобу.

З урахуванням викладеного вище, є необхідність розробки стабільного агоніста ApoA-I, який би імітував активність ApoA-I і який би міг бути зроблений за допомогою відносно простої і недорогої процедури. Однак, "правила" конструювання ефективних імітаторів ApoA-I не були встановлені, а також залишилися невідомими принципи конструювання органічних молекул, що володіють функціями ApoA-I.

3. Резюме винаходу

Даний винахід стосується агоністів ApoA-I, здатних утворювати амфіпатичні А-спіралі, які забезпечують імітацію активності ApoA-I, при тому, щоб конкретні рівні активності, наприклад, одиниці активності (активації, що визначаються відношенням LCAT до одиниці молекулярної маси) відповідали або перевищували такі показники нативної молекули. Зокрема, агоністами ApoA-I по даному винаходу є пептиди або пептидні аналоги, які: утворюють амфіпатичні спіралі (в присутності ліпідів), зв'язують ліпіди, утворюють пре-В-подібні або HDL-подібні комплекси, активують LCAT, зумовлюють підвищення сироваткових рівнів фракцій HDL і сприяють виходу холестерину з клітин.

Даний винахід засновується, зокрема, на виконаних заявниками дослідженнях і відкриттях пептидів, які імітують функції ApoA-I. Пептиди по даному винаходу були сконструйовані на основі передбачуваної спіральної структури і амфіпатичних параметрів 22-амінокислотної консенсусної послідовності, яка є похідною від спіральних повторів в складі ApoA-I. До подиву пептиди по даному винаходу володіють специфічною активністю, яка перевершує активність похідних від ApoA-I пептидів, описаних в науковій літературі. Дійсно, деякі варіанти по даному винаходу забезпечують 100% активності нативного ApoA-I, при тому, що деякі суперагоністи, представлені тут, перевершують специфічну активність нативного ApoA-I.

Даний винахід проілюстрований експериментальними прикладами, в яких описана структура, приготування і застосування конкретних амфіпатичних пептидів, які утворюють спіралі (в присутності ліпідів), зв'язують ліпіди, утворюють комплекси і підвищують активність LCAT. Ґрунтуючись на структурі і активності варіантів, що

наводяться в прикладах, заявники розробили “звід правил”, який може бути використаний для конструювання змінених або мutowаних форм, які також входять в обсяг даного винаходу.

Також даний винахід стосується фармацевтичних композицій, що містять такі агоністи АроА-I (або у вигляді самих пептидів, або у вигляді ліпопротеїнових комплексів) як активний компонент, рівно як і способів приготування таких композицій і їх застосування для лікування захворювань, асоційованих з дисліпопротеїнемією (наприклад, з серцево-судинними захворюваннями, атеросклерозом, метаболічним синдромом), рестенозом або появою в крові ендотоксинів (наприклад, як при септичному шоці).

3.1. Скорочення

По використанню в даному тексті прийняті наступні стандартні скорочення для генетично детермінованих L-амінокислот:

Амінокислота	Однобуквений символ	Стандартна аббревіатура
Аланін	A	Ala
Аргінін	R	Arg
Аспарагін	N	Asn
Аспарагінова кислота	D	Asp
Цистеїн	C	Cys
Глутамін	Q	Gln
Глутамінова кислота	E	Glu
Гліцин	G	Gly
Гистидин	H	His
Ізолейцин	I	Ile
Лейцин	L	Leu
Лізин	K	Lys
Метіонін	M	Met
Фенілаланін	F	Phe
Пролін	P	Pro
Серин	S	Ser
Треонін	T	Thr
Триптофан	W	Trp
Тирозин	Y	Tyr
Валін	V	Val

Скорочення, що використовуються для позначення D-енантіомерів генетично детермінованих амінокислот, є рядковими аналогами однобуквених позначень. Наприклад, позначення “R” відповідає L-аргініну, а позначення “r” - D-аргініну.

3.2. Визначення термінів

По використанню в даному тексті наступні терміни повинні прийматися в наступних значеннях:

“Алкіл”: означає насичений розгалужений, нерозгалужений або циклічний вуглеводневий радикал. Типовими алкільними групами, тим самим не обмежуючись, є метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутіл, ізобутіл, трет-бутіл, пентил, ізопентил, гексил і подібне. У переважних варіантах алкільною групою є C₁₋₆-алкіл.

“Алкеніл”: означає ненасичений розгалужений, нерозгалужений або циклічний вуглеводневий радикал, в складі якого є принаймні один міжвуглеводневий подвійний зв'язок. Цей радикал може характеризуватися або цис-, або транс-конформацією відносно подвійного зв'язку. Типовими алкенільними групами, тим самим не обмежуючись, є етеніл, пропеніл, ізопропеніл, бутеніл, ізобутеніл, трет-бутеніл, пентеніл, гексеніл і подібне. У переважних варіантах алкенільною групою є C₁₋₆-алкеніл.

“Алкініл”: означає ненасичений розгалужений, нерозгалужений або циклічний вуглеводневий радикал, в складі якого є принаймні один міжвуглеводневий потрійний зв'язок. Типовими алкенільними групами, тим самим не обмежуючись, є етиніл, пропініл, бутиніл, ізобутиніл, пентеніл, гексиніл і подібне. У переважних варіантах алкінільною групою є C₁₋₆-алкініл.

“Арил”: означає ненасичений вуглеводневий радикал, що характеризується кон'югованою електронною П-системою. Типовими алкенільними групами, тим самим не обмежуючись, є пента-2,4-дієн, феніл, нафтил, антрацил, азуленіл, хризеніл, короненіл, флуорантеніл, індаценіл, іденіл, оваленіл, периленіл, феналеніл, фенантреніл, піценіл, плейаденіл, піреніл, пірантренил, рубіценіл і подібне. У переважних варіантах арильною групою є C₅₋₂₀-арил, а більш переважним є C₅₋₁₀-арил.

“Алкарил”: означає алкільну, алкенільну або алкінільну групи з нерозгалуженим ланцюгом, в якому один з атомів водню, приєднаних до кінцевого атома вуглецю, заміщений арильною групою. Типовими алкарильними групами, є, тим самим не вичерпуючись, бензил, бензилиден, бензилидин, бензолбензил, нафтенбензил і подібне. У переважних варіантах алкарильною групою є C₆₋₂₆ алкарил, тобто алкільною, алкенільною або алкінільною складовою алкарильної групи є C₁₋₆, а арильною складовою є C₅₋₂₀-арил. У більш переважних варіантах алкарильною групою є C₆₋₁₃ алкарил, тобто алкільною, алкенільною або алкінільною складовою алкарильної групи є C₁₋₃-група, а арильною складовою є C₅₋₁₀-арил.

“Гетероарил”: означає арильну складову, при тому, що один або декілька атомів вуглецю заміщені іншим атомом, таким як N, P, O, S, As, Se, Si, Te і т.п. Типовими гетероарильними групами є, тим самим не обмежуючись, акридарсин, акридин, арсантридин, арсиндол, арсиндолін, карбазол, (3-карболін, хромей, цинолін,

фуран, імідазол, індазол, індол, індолізін, ізоарсиндол, ізоарсинолін, ізобензофуран, ізохромен, ізоіндол, ізофосфоіндол, ізофосфінолін, ізохінолін, ізотіазол, ізоксазол, нафтиридин, піримідин, фенантридин, фенантролін, феназин, фосфоіндол, фосфінолін, фталазин, птеридин, пурін, піран, піразин, піразол, піридазин, піридин, піримідин, пірол, піролізін, хіназолін, хінолін, хінолізін, хіноксалін, селенофен, телурофен, тіофен і ксантен. У переважних варіантах гетероарильною групою є 5-20-атомний гетероарил, а більш переважним є 5-10-атомний гетероарил.

"Алкгетероарил": означає алкільну, алкенільну або алкінільну групи з нерозгалуженим ланцюгом, в якому один з атомів водню, приєднаних до кінцевого атома вуглецю, заміщений гетероарильною групою. У переважних варіантах алкгетероарильна група представлена 6-26-членним алкгетероарилом, тобто в його складі алкільна, алкенільна або алкінільна складова алкгетероарила є C₁₋₆-групою, а гетероарил є 5-20-членним гетероарилом. У конкретних переважних варіантах алкгетероарилом є 6-13-членний алкгетероарил, тобто алкільна, алкенільна або алкінільна складова сполучена з 5-10-атомним гетероарилом.

"Заміщені алкіл, алкеніл, алкініл, арил, алкарил, гетероарил. або алкгетероарил": означає алкільну, алкенільну, алкінільну, арильну, алкарильну, гетероарильну або алкгетероарильну групу, в якій один або декілька атомів водню заміщені іншим заступником. Переважними заступниками є групи -OR, -SR, -NRR, -NO₂, -CN, галоген, -C(O)R, -C(O)OR і -C(O)NR, де кожний R представлений H, алкілом, алкенілом, алкінілом, арилом, алкарілом, гетероарилом або алкгетероарилом.

4. Короткий опис креслень

На фігурі 1A показана кругова схема структури спіралі Шиффера-Едмундсона та ідеалізованої амфіпатичної А-спіралі, в якій незафарбовані кільця означають гідрофільні амінокислотні залишки, а затінені кільця представляють гідрофобні амінокислотні залишки.

На фігурі 1B показана схема ідеалізованої спіралі по Фіг.1A у вигляді решітки зі спіраллю.

На фігурі 1C показана схема ідеалізованої спіралі по Фіг.1A у вигляді циліндра зі спіраллю.

На фігурі 2A кругова схема структури спіралі Шиффера-Едмундсона для базового пептиду формули (I), ілюструючи амфіпатичні властивості спіралі (незафарбовані кільця означають гідрофільні амінокислотні залишки, затінені кільця представляють гідрофобні амінокислотні залишки, а кільця з похилою штриховкою означають або гідрофільні, або гідрофобні амінокислотні залишки).

На фігурі 2B показана схема у вигляді решітки зі спіраллю для базового пептиду формули (I), що ілюструє гідрофобну поверхню даної спіралі.

На фігурі 2C показана схема у вигляді решітки зі спіраллю для базового пептиду формули (I), що ілюструє гідрофільну поверхню даної спіралі.

На фігурі 3A показана схема у вигляді решітки зі спіраллю, ілюструючи гідрофільну поверхню, визначену в роботі Segrest консенсусної 22-амінокислотної послідовності (PVLDEFREKLNEELEALKQKLK; SEQ ID NO 75).

На фігурі 3B показана схема у вигляді решітки зі спіраллю, ілюструючи гідрофільну поверхню, що є прикладом базового пептиду 4 (PVLDFRELLNELLEALKQKLK; SEQ ID NO 4).

На фігурі 4A показана схема у вигляді решітки зі спіраллю, ілюструючи гідрофобну поверхню визначеної в роботі Segrest консенсусної 22-амінокислотної послідовності (SEQ ID NO 75).

На фігурі 4B показана схема у вигляді решітки зі спіраллю, ілюструючи гідрофобну поверхню базового пептиду 4 що є прикладом (SEQ ID NO 4).

На фігурі 5A показана кругова схема спіралі Шиффера-Едмундсона для визначеного в роботі Segrest консенсусного 22-амінокислотного пептиду (SEQ ID NO 75).

На фігурі 5B показана кругова схема спіралі Шиффера-Едмундсона для базового пептиду 4, що є прикладом (SEQ ID NO 4).

На фігурі 6A представлена комп'ютерна модель двох пептидів 4 (SEQ ID NO 4), показаних в антипаралельній орієнтації, в яких залишки Glu-8 і Gln-19 виділені, щоб проілюструвати здатність цих двох пептидів утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки в процесі скріплення з ліпідами.

На фігурі 6B представлена комп'ютерна модель двох пептидів 102 (PVLDFRELLNLXLEALKEKLK; SEQ ID NO 102), показаних в антипаралельній орієнтації, в яких залишки Glu-8 і Gln-19 виділені, щоб проілюструвати нездатність цих двох пептидів утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки в процесі скріплення з ліпідами.

На фігурі 7A показана схема даного винаходу з розгалуженнями третього порядку.

На фігурі 7B показана схема даного винаходу з розгалуженнями четвертого порядку.

На фігурі 7C показана схема даного винаходу з розгалуженнями змішаних порядків.

На фігурі 7D показаний приклад схеми даного винаходу з розгалуженнями по залишках лізину.

На фігурі 8A приведений графік, що відображає відмінності між виявленим хімічним зсувом НА і хімічним зсувом НА, табульованим для випадкових спіралей, визначених для пептиду 4 (SEQ ID NO 4) і для консенсусного 22-амінокислотного пептиду по Segrest (SEQ ID NO 75).

На фігурі 8B приведений графік, що відображає відмінності між виявленим хімічним зсувом для протона в складі амідів і хімічним зсувом для протона в складі амідів, табульованим для випадкових спіралей, визначених для пептиду 4 (SEQ ID NO 4) і для консенсусного 22-амінокислотного пептиду по Segrest (SEQ ID NO 75).

На фігурі 8C показана схема, що відображає періодичні відносини протонного хімічного зсуву НА для пептиду 4 (SEQ ID NO 4) і його А-спіральної конформації.

На фігурах 9A-9D показані гель-хроматограми виділених HDL людини, що інкубувалися протягом 2 годин при 37°C в буфері, з вимірами рівнів поглинання (-), і в присутності ¹⁴C-поміченого пептиду 4 з вимірами рівнів поглинання (---) або радіометричного тестування по ¹⁴C (♦). Хроматограми були отримані при співвідношеннях маси пептиду і HDL, рівних 1:15 (Фіг.9A), 1:10 (Фіг.9B), 1:5 (Фіг.9C) і 1:3 (Фіг.9D).

На фігурі 9Е показані результати контрольної гель-фільтрації вільного незв'язаного ^{14}C -поміченого пептиду 4 за даними вимірювання рівня поглинання (---) і радіометричного тестування по ^{14}C (●).

На фігурі 9F показані гель-фільтраційні хроматограми, що ілюструють відмінності між параметрами поглинання HDL-пептидних комплексів, представленими на Фіг.9А (---), 9В (-), 9С (---) і 9D (-) і контрольної хроматограми, показаної на Фіг. 9Е (позитивні значення різниці вказують на більш високий рівень поглинання в зразках, оброблених білком, що тестується; негативні значення відповідають більш потужному рівню поглинання в контрольному зразку).

На фігурі 10 показаний графік, що відображає склад ліпопротеїнів у кроликів, яким ін'єктували 10мг/кг пептиду 4 (SEQ ID NO 4) (у вигляді комплексів DPPC).

На фігурі 1А показана схема, що відображає різні стани агрегації і ліпопептидні комплекси, які можуть бути отримані з використанням агоністів АроА-І по даному винаходу. Зліва: процес мультимеризації пептидів, що зумовлюється взаємодією декількох пептидних спіралей і що приводить до утворення олігомерів в умовах точно встановленої концентрації білка, рН і іонної сили розчину. У центрі: взаємодія пептидів (в будь-якому стані агрегації) з ліпідним компонентом (таким як SUV), що приводить до реорганізації ліпідів. Праворуч: шляхом зміни молярного відношення ліпиду і пептиду можуть бути отримані різні типи ліпопептидних комплексів - від ліпопептидних коміцел при низькому співвідношенні "ліпід/пептид" до дископодібних часток і нарешті до великим мультимерних комплексів при збільшенні співвідношення "ліпід/пептид".

На фігурі 11В показана базова модель дископодібних ліпопептидних комплексів, що утворюються при точно встановлених співвідношеннях "ліпід/пептид". Кожний пептид, оточуючий край диска, знаходиться в тісному контакті з двома його найближчими сусідами.

5. Докладний опис винаходу

Агоністи АроА-І по даному винаходу імітують функціональну активність АроА-І. Вони утворюють амфіпатичні спіралі (в присутності ліпідів), здатні зв'язувати ліпіди, утворюють пре-В-подібні або HDL-подібні комплекси, активують фермент LCAT, зумовлюють підвищення концентрації HDL і сприяють виходу холестерину з клітин. Біологічні функції пептидів корелюють з їх спіральною структурою або з конверсією в спіральні структури, що відбувається в присутності ліпідів.

Агоністи АроА-І по даному винаходу можуть бути отримані у вигляді стабільних стандартних доз, наприклад, у вигляді ліофілізованих продуктів, які можуть бути знову відновлені перед безпосереднім застосуванням *in vivo* або включені в складу нового препарату. Даний винахід включає фармацевтичні композиції і застосування таких композицій для лікування гіперліпідемії, гіперхолестеринемії, ішемічної хвороби серця, атеросклерозу і інших станів, таких як поява ендогенних токсинів, що зумовлюється септичним шоком.

Даний винахід ілюструється експериментальними прикладами, які показують, як агоністи АроА-І по даному винаходу взаємодіють з HDL-компонентом плазми крові і можуть збільшувати концентрацію HDL і пре-В-часток. Агоністи АроА-І по даному винаходу зумовлюють інтенсифікацію виходу (вивільнення з рецепторів) клітинного холестерину. Також ці агоністи виключно ефективні з точки зору активації ферменту LCAT, що тим самим приводить до сприяння процесу ОТХ.

Застосування агоністів АроА-І по даному винаходу в тваринних моделях *in vivo* зумовлює підвищення концентрації сироваткового HDL.

Більш детально даний винахід описаний в окремих розділах нижче, включаючи: склад і структуру пептидних агоністів АроА-І, структурні і функціональні характеристики, способи отримання загальних і стандартних доз і способи їх застосування.

5.1. Структура і функції пептиду

Агоністи АроА-І по даному винаходу звичайно є пептидами або їх аналогами, які здатні утворювати амфіпатичні А-спіралі в присутності ліпідів і, які імітують активність АроА-І. Агоністи включають в якості своїх основних компонентів базовий ("серцевинний") пептид, що складається з 15-29 амінокислотних залишків, переважно з 22 амінокислотних залишків, або вони є аналогами таких пептидів, при тому, що принаймні один амідний зв'язок в пептиді замінений на заміщений амід, на ізостери амиду або міметики амиду.

Агоністи АроА-І по даному винаходу частково засновані на результатах досліджень, що проводилися заявниками, які із здивуванням встановили, що зміна декількох амінокислотних залишків в первинній (амінокислотній) послідовності консенсусного пептиду що складається з 22 амінокислотних залишків, визначеній в роботах Venkatachalapathi et al., 1991 (Mol. Conform. & Biol. Interactions, Ind. Acad. Sci., ser. У, 585-596 (PVLDEFREKLNEELEALKQKLK; SEQ ID NO 75: тут і далі вона позначається як "консенсусна 22-мірна послідовність Segrest" або "консенсусний 22-мірний пептид"), який приблизно є критичним по активності синтетичних пептидів, забезпечує синтетичним пептидам активність, рівну, а в деяких експериментах і перевищуючу активність нативного АроА-І. Зокрема, заявники встановили, що заміна трьох заряджених амінокислотних залишків в консенсусному 22-мірному пептиді Segrest (Glu-5, Lys-9 і Glu-13) на гідрофобний залишок лейцину призводить до отримання пептидів, які імітують структурні і функціональні параметри АроА-І в мірі, яка є безпрецедентною для даної області техніки.

Поза зв'язком з якими-небудь теоретичними побудовами, вважається, що спіраль, що утворюється агоністами АроА-І по даному винаходу, в більш вираженій мірі імітує структурні і функціональні параметри ділянки амфіпатичної спіралі в складі нативного АроА-І, що дуже важливо з точки зору ефективного скріплення ліпідів, виходу холестерину з клітин і активації LCAT, в порівнянні з тим, що характерно для А-спіралей, що утворюються пептидами-міметиками АроА-І, раніше описаними в науковій літературі, тим самим визначаючи в результаті пептиди, які характеризуються істотно більш високою АроА-І-подібною активністю в порівнянні з цими раніше охарактеризованими пептидами. Дійсно, при тому, що більшість агоністів АроА-І по даному винаходу

виявляють рівну, а в деяких варіантах навіть перевищуючу активність нативного ApoA-I, кращі за характеристиками з описаних в літературі міметиків ApoA-I - пептид 1RAM4 (EWLEAFYKKVLEKLKELF; SEQ ID NO 246) (Corinjn et al., 1993, Biochim. Biophys. Acta, 1170, 8-16; Labeur et al., 1994, Arteriosclerosis: Abstracts 186 & 187) і N-ацетилований C-амідований пептид 18AM4 (SEQ ID NO 239) (Brasseur, 1993, Biochim. Biophys. Acta, 1170, 1-7) - виявляють менш ніж 4% і 11% активності, відповідно, від активності нативного ApoA-I, на що вказують дані вимірів в тесті на активацію ферменту LCAT, описаному в даній заявці.

Загалом, базові пептиди (або їх аналоги), які складають агоністи ApoA-I по даному винаходу, характеризуються наступною формулою:

$X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-X_{21}-X_{22}$,

де

X_1 - пролін (P), аланін (A), гліцин (G), глутамін (Q), аспарагін (N), аспарагінова кислота (D) або D-пролін (p);

X_2 - аліфатична амінокислота;

X_3 - лейцин (L) або фенілаланін (F);

X_4 - кисла амінокислота;

X_5 - лейцин (L) або фенілаланін (F);

X_6 - лейцин (L) або фенілаланін (F);

X_7 - гідрофільна амінокислота;

X_8 - кисла або основна амінокислота;

X_9 - лейцин (L) або гліцин (G);

X_{10} - лейцин (L), триптофан (W) або гліцин (G);

X_{11} - гідрофільна амінокислота;

X_{12} - гідрофільна амінокислота;

X_{13} - гліцин (G) або аліфатична амінокислота;

X_{14} - лейцин (L), триптофан (W), гліцин (G) або нафтилаланін-Nal;

X_{15} - гідрофільна амінокислота;

X_{16} - гідрофобна амінокислота;

X_{17} - гідрофобна амінокислота;

X_{18} - основна амінокислота, глутамін (Q) або аспарагін (N),

X_{19} - основна амінокислота, глутамін (Q) або аспарагін (N);

X_{20} - основна амінокислота;

X_{21} - аліфатична амінокислота; і

X_{22} - основна амінокислота.

Базові пептиди, що мають формулу (I), частково визначені не конкретними амінокислотами, а їх класами. Характеристики різних класів представлені в даному тексті в зв'язку з описом мутантних і змінених варіантів формули (I).

У базових пептидах формули (I), символ "-" між амінокислотними залишками X_n означає функцію послідовного зв'язку осьової структури пептиду. Отже, символ "-" відповідає пептидному зв'язку або амідному зв'язку (-C(O)NH-). Повинно бути, однак, зрозуміло, що даний винахід представляє пептидні аналоги, в яких один або декілька амідних зв'язків необов'язково можуть бути замінені на іншій ніж з амідом зв'язок, переважно на зв'язок з ізостерами аміду або із заміщеним амідом. Отже, при тому, що різні залишки X_n в формулі (I) відповідають амінокислотам, а переважні варіанти даного винаходу представлені пептидами, для фахівця в даній області техніки буде зрозуміло, що у варіантах з неамідними зв'язками термін "амінокислота" або "залишок" по використанню в даному тексті означає інші біфункціональні складові, що включають групи, схожі по структурі з бічними ланцюгами амінокислот.

Заміщені аміди загалом включають, тим самим не вичерпуючись, групи формули -C(O)NH-, в якій R представлений C_{1-6} -алкілом, заміщеним C_{1-6} -алкілом, C_{1-6} -алкенілом, заміщеним C_{1-6} -алкенілом, C_{1-6} -алкінілом, заміщеним C_{1-6} -алкінілом, C_{5-20} -арилом, заміщеним C_{5-20} -арилом, C_{6-26} -алкарилом, заміщеним C_{6-26} -алкарилом, 5-20-атомним гетероарилом, заміщеним 5-20-атомним гетероарилом, 6-26-атомним алкгетероарилом і заміщеним 6-26-атомним алкгетероарилом.

Ізостери аміду загалом включають, тим самим не обмежуючись, групи -CH₂NH-, -CH₂S-, -CH₂CH₂-, -CH=CH- (цис- і транс-), -C(O)CH₂-, -CH(OH)CH₂- і -CH₂SO-. Сполуки, що мають такі неамідні зв'язки, і способи отримання таких сполук добре відомі в даній області техніки (див., наприклад, Spatola, March 1983, Vega Data Vol.1, Issue 3; Spatola, 1983, Peptide Backbone Modifications", In "Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides & Proteins", ed. Weinstein, Marcel Dekker, New York, p.267 (базовий огляд); Morley, 1980, Trends Pharm. Sci., 1, 463-468; Hudson et al., 1979, Intern. J.Prot. Res., 14, 177-185 (групи -CH₂NH- і -CH₂CH₂-); Spatola et al., 1986, Life Sci., 38, 1243-1249 (група-ОВД: Hann, 1982, J.Chem. Soc. Perkin Trans., 1, 307-314 (група -CH=CH- - цис- і транс-); Almquist et al., 1980, J.Med. Chem., 23, 1392-1398 (група -COCH₂-); Jennings-White et al., Tetrahedron Lett., 23, 2533 (група -COCH₂-); європейська патентна заявка 45664 (1982) CA 97, 39405 (група -CH(OH)CH₂-); Holladay et al., 1983, Tetrahedron Lett., 24, 4401-4404 (група -CH(OH)CH₂-); i Hruby, 1982, Life Sci., 31, 1890199 (група -CH₂S-).

Крім того, один або декілька амідних зв'язків можуть бути замінені імітуючими пептид або імітуючими амід складовими, які в скільки-небудь істотній мірі не порушують структуру і активність пептидів. Відповідними амідоміметиками є ті, які описані, наприклад, Ольсоном з співавт. (Olson et al., 1993, J.Med. Chem., 36, 3039-3049).

Критичною властивістю базових пептидів формули (I), є їх здатність утворювати в присутності ліпідів

амфіпатичну А-спіраль. Під поняттям “амфіпатична” розуміється те, що така А-спіраль характеризується наявністю спрямованих в різні боки гідрофільної і гідрофобної поверхонь, орієнтованих вздовж їх довгої осі: тобто одна поверхня такої спіралі складена в основному гідрофільними бічними ланцюгами амінокислот, в той час як протилежна поверхня складена в основному гідрофобними бічними ланцюгами. На фіг.1А і 1В показані дві схематичні версії протилежних гідрофобної і гідрофільної поверхонь у взятої за приклад ідеалізованої А-спіралі. На Фіг.1А показана кругова діаграма спіралі по Шифферу-Едмундсону (Schiffer & Edmundson, 1967, Biophys. J., 7, 121-135). У цьому “колі” довга вісь спіралі перпендикулярна площині листа паперу, на якому знаходиться малюнок. Починаючи з N-кінця, подальші амінокислотні залишки (представлені у вигляді кілець) розподілені по периметру кола з інтервалом приблизно в 100°. Таким чином, амінокислотний залишок “n+1” відхилений від залишку “n” на 100°, залишок “n+2” відхилений на 100° від залишку “n+1” і т.д. Показник у 100° відповідає наявності 3,6 залишків амінокислот з розрахунку на один виток, що звичайно для ідеалізованих А-спіралей. На Фіг.1А протилежні гідрофільна і гідрофобна поверхні спіралі виразно видні: гідрофільні амінокислоти показані у вигляді незафарбованих кілець, а гідрофобні залишки амінокислот показані у вигляді затінених кілець.

На фігурі 1В показана схема ідеалізованої амфіпатичної спіралі, зображеної і на Фіг.1А, у вигляді молекулярної решітки (Lim, 1978, FEBS Lett., 89, 10-14). На звичайній схемі спіралі у вигляді решітки А-спіраль зображається у вигляді циліндра, який зрізаний вздовж центральної осі своєї гідрофільної поверхні і сплющений. Таким чином, центральна частина гідрофобної поверхні, що визначається по величині гідрофобного моменту конкретної спіралі (Eisenberg et al., 1982, Nature, 299, 371-374), знаходиться в центрі схеми і орієнтована таким чином, щоб як би підводитися над поверхнею сторінки. Схема циліндра спіралі до “розрізання і сплющення” показана на Фіг.1С. При перетинах циліндра різними площинами можуть бути отримані різні плани однієї і тієї ж амфіпатичної спіралі: відповідно, може бути отримана різна інформація про властивості такої спіралі.

Амфіпатична природа А-спіралі, що утворюється в присутності ліпідів базовими пептидами формули (I), продемонстрована на Фіг.2. На Фіг.2 показана кругова схема по Шифферу-Едмундсону, а на Фіг.2В показана схема спіралі у вигляді плоскої решітки з розташованою на передньому плані гідрофобною поверхнею і на Фіг.2С показана схема у вигляді плоскої решітки з розташованою на передньому плані гідрофільною поверхнею. На кожній з Фіг.2А, 2В і 2С гідрофільні залишки представлені незафарбованими кільцями, а гідрофобні залишки - затіненими кільцями. Як буде обговорюватися з докладними подробицями нижче при розгляді змінених або мutowаних форм пептидів формули (I), деякі амінокислотні залишки можуть бути замінені іншими амінокислотними залишками таким чином, щоб гідрофільна і гідрофобна поверхні спіралі, що утворюється конкретним пептидом, можуть і не перебувати повністю з, відповідно, гідрофільних і гідрофобних амінокислот. Таким чином, повинно бути зрозуміло, що при описі амфіпатичної а-спіралі, що утворюється пептидами по даному винаходу, слова “гідрофільна поверхня” вказує на ту поверхню цієї спіралі, яка характеризується сумарною гідрофільністю. Слова “гідрофобна поверхня” означають те, що поверхня пептиду характеризується сумарною гідрофобністю.

Не торкаючись конкретних теоретичних побудов, можна вважати, що деякі структурні і (або) фізичні властивості амфіпатичної спіралі, що утворюється базовими пептидами формули (I), є важливими для вияву активності. Ці властивості включають рівень амфіпатичності, загальний рівень гідрофобності, середню величину гідрофобності, гідрофобний і гідрофільний кути, гідрофобний момент, середню величину гідрофобного моменту і сумарний заряд А-спіралі.

При тому, що зображена на Фіг.2А кругова схема представляє стандартний підхід до відображення амфіпатичної природи базових пептидів формули (I), рівень амфіпатичності (суть ступінь асиметрії гідрофобності) може бути стандартним шляхом обчислений шляхом визначення гідрофобного моменту (M_H) конкретної спіралі. Способи обчислення M_H для конкретної поліпептидної послідовності добре відомі в даній області техніки і описані, наприклад Ейзенбергом (Eisenberg, 1984, Ann. Rev. Biochem., 53, 595-623). Реальна величина M_H обчислена для конкретного пептиду, буде залежати від загального числа амінокислотних залишків, що складають даний пептид. Отже, в принципі не є інформативним порівняння показників M_H для пептидів неоднакової довжини.

Амфіпатичність пептидів неоднакової довжини може бути піддана прямому порівнянню по озаці усередненого гідрофобного моменту ($\langle M_H \rangle$). Середній гідрофобний момент може бути визначений співвіднесенням величини M_H до загального числа амінокислот в складі спіралі (тобто $\langle M_H \rangle = M_H/N$) загалом, базові пептиди, що характеризуються величиною $\langle M_H \rangle$ в межах від 0,45 до 0,65 з урахуванням оцінки цього показника на основі нормалізованої шкали гідрофобності за Ейзенбергом (Eisenberg, 1984, J.Mol. Biol., 179, 125-142), розглядаються як такі, що попадають в обсяг даного винаходу, при тому, що переважним діапазоном величин $\langle M_H \rangle$ є діапазон 0,50-0,60.

Загальний або повний рівень гідрофобності (H_0) пептиду може бути стандартним шляхом обчислений як сума величин гідрофобності кожного з амінокислотних залишків в складі даного пептиду (тобто $H_0 = \sum_{i=1}^N H_i$),

де N - число амінокислотних залишків в пептиді, а H_i - величина гідрофобності i -ого амінокислотного залишку. Середня гідрофобність ($\langle H_0 \rangle$) - це гідрофобність, співвіднесена до числа амінокислотних залишків (тобто $\langle H_0 \rangle = H_0/N$). Загалом, базові пептиди, які характеризуються середньою величиною гідрофобності в межах від -0,050 до -0,070 з урахуванням оцінки цього показника на основі нормалізованої шкали гідрофобності за Ейзенбергом (Eisenberg, 1984, J.Mol. Biol., 179, 125-142), розглядаються як такі, що попадають в обсяг даного

винаходу, при тому, що переважним діапазоном величин середньої гідрофобності є діапазон від -0,030 до -0,055.

Загальна гідрофобність гідрофобної поверхні (N_o^{pho}) амфіпатичної спіралі може бути визначена як сума величин гідрофобності гідрофобних амінокислотних залишків, що попадають всередину гідрофобного кута у відповідності до визначеного нижче (тобто $N_o^{pho} = \sum_{i=1}^{N_h} N_i$)

де N_h - число гідрофобних амінокислотних залишків в складі гідрофобної поверхні, а N_i відповідає визначеному вище). Середня гідрофобність гідрофобної поверхні ($\langle N_o^{pho} \rangle$) - це відношення N_o^{pho} / N_h , в якому N_h відповідає визначеному вище. Загалом, базові пептиди, які характеризуються величиною $\langle N_o^{pho} \rangle$ в межах від 0,90 до 1,20 з урахуванням оцінки цього показника на основі нормалізованої шкали гідрофобності за Ейзенбергом (Eisenberg, 1984, цит. вище; Eisenberg et al., 1982, цит. вище), розглядаються як такі, що попадають в обсяг даного винаходу, при тому, що переважним діапазоном величин $\langle N_o^{pho} \rangle$ є діапазон від 0,94 до 1,10.

Гідрофобний кут (кут "rho") звичайно визначається як кут або дуга, що утворюється найбільш тривалим трактом, складеним гідрофобними амінокислотними залишками у випадку, коли такий пептид зображений у вигляді кругової моделі за Шиффером-Едмундсоном (тобто число розташованих підряд гідрофобних залишків в такій схемі множиться на 20°). Гідрофільний кут (кут "phi") є різницею між 360° і кутом "rho" (тобто кут 360° мінус "rho"). Для фахівця в даній області техніки буде зрозуміло, що величина кутів "rho" і "phi" буде, зокрема, залежати від числа амінокислотних залишків в конкретному поліпептиді. Наприклад, беручи до уваги зображення на фіг. 5A і 5B, можна бачити, що в одному колі схеми Шиффера-Едмундсона знаходиться тільки 18 амінокислот. Зменшення числа амінокислот приводить до утворення розриву в колі, а більша кількість амінокислот приведе до того, що окремі сайти даної схеми будуть зайняті більш ніж однією амінокислотою.

У тому випадку, коли пептиди, що складаються більш ніж з 18 амінокислотних залишків, такі як базові пептиди формули (I), поняття "безперервний тракт", складений гідрофобними амінокислотними залишками, означає те, що принаймні одна амінокислота в положеннях по периметру кола, що включають більше за одну амінокислоту, є гідрофобною амінокислотою. Отже, звертаючись до Фіг.5B, кут "rho" являє собою дугу, утворену залишками №№5, 16, 9, 2, 13, 6, 17, 10, 3 і 14, незважаючи на присутність в 20-му положенні гідрофільного залишку, оскільки залишок в положенні 2, який займає на круговій схемі те ж положення, що і 20-й залишок пептиду, є гідрофобним залишком. Звичайно базові пептиди, що характеризуються кутом гідрофобності в межах від 160° до 220° розглядаються як такі, що попадають в обсяг даного винаходу, при тому, що діапазон величин від 180° до 200° є найбільш переважним.

Деякі структурні і (або) фізичні характеристики базових пептидів формули (I) проілюстровані на Фіг.3 і 4. На фігурі 3B показана схема у вигляді решітки вибраного в якості прикладу пептиду 4 по даному винаходу (PVLDFRELLNELLEALKQKLK; SEQ ID NO 4): вона показує розподіл заряду вздовж гідрофільної поверхні спіралі. На Фіг.3B циліндр зі спіраллю був розтінений вздовж центральної осі гідрофобної поверхні і сплющений. Три гідрофобних залишки лейцину (L), які замінують залишки консенсусної 22-мірної послідовності Segrest (Фіг.3A), затінені. Як видно з показаного на Фіг.3B, позитивно заряджені амінокислотні залишки кластеризовані на останньому С-кінцевому витку спіралі (С-кінцева частина орієнтована догори малюнка). Не зв'язуючись з якою-небудь конкретною теорією, можна вважати, що кластер основних залишків в С-кінцевій частині стабілізує спіраль за рахунок електростатичних взаємодій в зарядженому (NH_3^+) - спіральному диполі. Також передбачається, що стабілізація має місце за рахунок гідрофобних взаємодій між бічними ланцюгами лізину і серцевинною частиною спіралі (див. Groebke et al., 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93, 4025-4029; Esposito et al., 1997, Biopolymers, 41, 27-35).

За винятком С-кінцевої частини, в якій кластеризований позитивний заряд, по іншій частині гідрофільної поверхні розподілені негативні заряди при наявності принаймні одного негативно зарядженого (кислого) амінокислотного залишку з розрахунку на виток, внаслідок чого утвориться безперервний тракт негативних зарядів по гідрофільній поверхні даної спіралі. Один позитивний заряд пов'язаний з 7-м залишком, який, як передбачається, бере участь в забезпеченні стабільності спіралі за рахунок формування сольового зв'язку ("містка") з кислим залишком, розташованим на сусідньому витку спіралі.

На Фіг.4B показана схема спіралі у вигляді решітки гідрофобної поверхні амфіпатичної спіралі, що утворюється вибраним як приклад пептидом 4 (SEQ ID NO 4). На Фіг.4B циліндр розтінений вздовж центральної осі гідрофільної поверхні і сплющений. Гідрофобна поверхня базового пептиду включає по два гідрофобних залишки на 1 виток спіралі, за винятком останнього С-кінцевого витка, в якому переважають основні залишки. Аналіз методом ядерно-магнітного резонансу показує, що амінокислотні залишки 3, 6, 9 і 10 даного базового пептиду формують гідрофобний кластер поблизу N-кінцевої частини даної спіралі. У центрі цього кластера знаходиться займаючий 6-е положення залишок фенілаланіну: вважається, що він грає важливу роль в стабілізації гідрофобного кластера.

Не залучаючи яку-небудь конкретну теорію, можна вважати, що гідрофобний кластер, що утворюється залишками 3, 6, 9 і 10, є істотним в точки зору забезпечення ефективного скріплення ліпідів і активації ферменту LCAT. Наприклад, при тому, що вибраний як приклад пептид 4 (SEQ ID NO 4) виявляє 93%-у активацію LCAT в тесті, який описаний в даній заявці, похідне пептиду 4, що включає в 9-му положенні залишок лізину (K) (пептид 33: SEQ ID NO 33), який руйнує даний гідрофобний кластер, виявляє тільки 33%-у ефективність по активації LCAT, визначену в тому ж самому тесті. Амфіпатичні пептиди, як очікується,

зв'язують фосфоліпіди шляхом розміщення гідрофобних поверхонь відносно алкільних ланцюгів в складі ліпідних складових. Отже, вважається, що даний високогідрофобний кластер забезпечує високий рівень афінності по відношенню до ліпідів, характерний для базових пептидів по даному винаходу. Оскільки скріплення ліпідів є умовою для активації LCAT, можна вважати, що даний гідрофобний кластер також є істотним з точки зору активації LCAT.

Ароматичні амінокислоти часто розглядаються, як важливі чинники прикріплення пептидів і протеїнів до ліпідів (De Kruijff, 1990, Biosci. Rep., 10, 127-130; O'Neil & De Grado, 1990, Science, 250, 645-551; Blondelle et al., 1993, Biochim. Biophys. Acta, 1202, 331-336). Таким чином, далі можна вважати, що залишок фенілаланіна-6, який знаходиться в центрі гідрофобного кластера, також може грати ключову роль в прикріпленні базових пептидів формули (I) до ліпідів.

Взаємодії між базовими пептидами по даному винаходу і ліпідами приводять до утворення пептидно-ліпідних комплексів. Як показано на Фіг.11A, характер такого комплексу (коміцели, дископодібні структури, пухирцеподібні структури і багаточислові утворення), залежить від молярного відношення в парі "ліпід/пептид", при тому, що коміцели загалом утворюються при низькому молярному відношенні в комплексі "ліпід/пептид", а три інших типи комплексів утворюються при послідовному зростанні молярних відносин у комплексів "ліпід/пептид". Цей параметр був охарактеризований для амфіпатичних пептидів (Erland, "The Amphipathic Helix", 1993) і для апопротеїна ApoA-I (Jones, 1992, "Structure and Function of Apolipoproteins", Ch. 8, pp.217-250). Молярне відношення в комплексі "ліпід/пептид" також є чинником, що визначає розмір і склад таких комплексів (див. розділ 5.3.1 в даній заявці).

Довга вісь А-спіралі, що утворюється базовими пептидами формули (I), загалом має викривлену форму. Для типових амфіпатичних спіралей було встановлено, що довжина водневих зв'язків на гідрофільній і гідрофобній поверхнях варіюється таким чином, що гідрофобна сторона спіралі є увігнутою (Barlow & Thornton, 1988, J. Mol. Biol., 201, 601-619; Zhou et al., 1992, J.Amer. Chem. Soc., 33, 11174-11183; Gasell et al., 1997, J.Biomol. NMR, 9, 127-135). Поза зв'язком з якою-небудь конкретною теорією, можна вважати, що загальне викривлення гідрофобної поверхні в спіралі може бути важливим чинником в процесі скріплення дископодібних комплексів - викривлена спіраль дозволяє пептиду краще "прилаштуватися" до країв дископодібних часток, тим самим збільшуючи стабільність пептидно-дископодібного комплексу.

У принципі в складі структурної моделі, що приймається ApoA-I амфіпатичні А-спіралі упаковуються навколо країв дископодібних HDL (див. Фіг.11У). В цій моделі спіралі, як вважається, укладаються так, щоб їх гідрофобні поверхні розташовувалися навпроти ацильних ланцюгів ліпідів (Brasseur et al., 1990, Biochim. Biophys. Acta, 1043, 245-252). Спіралі організовані в антипаралельній орієнтації, а кооперована дія таких спіралей розглядається як важливий чинник стабільності дископодібних комплексів HDL (Brasseur et al., цит. вище). Передбачається, що одним з чинників, що забезпечують стабільність дископодібних комплексів HDL, є існування іонних взаємодій між кислими і основними залишками, внаслідок чого утворюються міжмолекулярні сольові "містки" або водневі зв'язки між залишками на сусідніх антипаралельних спіралях. У такій моделі пептиди розглядаються не як окремі елементи, а як чинники взаємодії принаймні двох сусідніх пептидних молекул (фіг.11В).

Також в принципі можна вважати прийнятним, що утворення міжмолекулярного водневого зв'язку або сольового "містка" між кислим і основним залишками, відповідно, по положеннях поліпептидної спіралі "i" та "i+3" стабілізує цю спіральну структуру (Marqusee et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 8898-8902).

Таким чином, додаткові ключові параметри базових пептидів формули (I) пов'язані з їх здатністю утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки один з одним, коли вони взаєморозташовуються в антипаралельній орієнтації, при тому, що їх гідрофобні поверхні орієнтуються в одному і тому ж напрямі, тобто так, як це відбувається при скріпленні пептидів з ліпідами (тобто між кислими залишками в 4-му і 8-му положеннях і основними залишками в 18-му, 20-му і 22-му положеннях), а також з їх здатністю утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки або сольові "містки" поруч з N- і С-кінцевими ділянками конкретної спіралі (тобто між кислими і основними залишками в положеннях 4 і 7 і також 15 і 18).

Здатність базових пептидів формули (I) утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки проілюстровані на Фіг.6А. На Фіг.6А дві ідеалізовані А-спіралі, утворені вибраним як приклад пептидом 4 (SEQ ID NO 4), зіставлені в антипаралельній орієнтації так, щоб їх відповідні гідрофобні поверхні розташовувалися в однаковій орієнтації (у напрямі від площини сторінки). Взаємодії з утворенням водневого зв'язку будуть відбуватися між амінокислотами E8 і Q19 (Huyghues-Despointes et al., 1995, Biochemistry, 34,13267-13271).

Крім того, при зіставленні в антипаралельній орієнтації спіралі щільно упаковуються: при цьому відсутні стеричні перешкоди тісному контакту між спіралями. Зміни в амінокислотній послідовності у базових пептидів, які порушують процес упаковки спіралей, негативно впливають на активність базових пептидів. Наприклад, звертаючись до Фіг.6В, димер пептидів, в складі яких глутамін-19 замінений на глутамінову кислоту (пептид 102: PVLDFRELLNLXLEALKEKLK, де X - це А-аміноізобутирова кислота (Aib)); (SEQ ID NO 102), тобто вони не можуть утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки, не здатний активувати LCAT. Істотним є те, що при тому, що пептид 4 (SEQ ID NO 4) виявляє 93%-ий рівень ефективності активації LCAT в тесті, описаному в даній заявці, пептид 102 (SEQ ID NO 102) виявляє лише 2% такої активності в тому ж самому тесті.

Таким чином, не торкаючись якої-небудь конкретної теорії, можна вважати, що здатність базових пептидів формули (I) упаковуватися щільним образом і взаємодіяти по іонному типу з утворенням внутрішньо- і (або) міжмолекулярних сольових "містків" і (або) водневих зв'язків в процесі скріплення з ліпідами в антипаралельній орієнтації є важливою властивістю базових пептидів по даному винаходу.

Здатність базових пептидів здійснювати переважні міжмолекулярні пептид-пептидні взаємодії також

розглядається як важливий чинник і у відсутність ліпідів. Базові пептиди по даному винаходу можуть самоасоціюватися, зокрема, через високі значення їх $\langle M_n \rangle$, $\langle H_o \rangle$ і гідрофобного кута (див. табл.1). Явище самоасоціації залежить від таких параметрів як pH, концентрація пептиду та іонна сила розчину і може виявлятися в утворенні декількох типів самоасоціацій - від наявності мономерних до появи різних мультимерних форм (Фіг.11А). Гідрофобна серцевина пептидної агрегації сприяє гідрофобним взаємодіям з ліпідами. Здатність пептидів агрегуватися навіть при дуже низьких їх концентраціях може сприяти їх скріпленню з ліпідами. Передбачається, що в серцевинній частині агрегації пептидів міжпептидні взаємодії також мають місце і можуть конкурувати з пептидно-ліпідними взаємодіями.

У доповнення до описаних вище властивостей, інші параметри, як можна передбачити, важливі з точки зору активності, включаючи такі властивості як загальне число гідрофобних залишків, загальне число заряджених залишків і кумулятивний заряд пептидів.

Узагальнення переважних фізичних і структурних властивостей базових пептидів формули (I) представлені нижче в таблиці 1.

Таблиця 1		
Фізичні властивості переважних агоністів АроА-I формули (I)		
Властивість	Діапазон	Переважний діапазон
Частка гідрофобних амінокислот, %	40-70	50-60
$\langle H_o \rangle$	від -0,050 до -0,070	від -0,030 до -0,055
$\langle H_o^{pho} \rangle$	0,90-1,2	0,94-1,1
$\langle M_n \rangle$	0,45-0,65	0,50-0,60
Кут "pho"	160°-220°	180°-200°
Частка позитивно заряджених амінокислот	3-5	4
Частка негативно заряджених амінокислот	3-5	4
Сумарний заряд	від -1 до +1	0
Гідрофобний кластер	в положеннях 3, 6, 9 і 10 знаходяться гідрофобні амінокислоти	
Кислий кластер	принаймні 1 кисла амінокислота на 1 виток за винятком останніх 5 С-кінцевих амінокислот	
Основний кластер	принаймні 3 основні амінокислоти з 5 останніх С-кінцевих амінокислот	

Властивості амфіпатичних А-спіралей, що утворюються базовими пептидами по даному винаходу, в істотній мірі відрізняються від властивостей амфіпатичних А-спіралей А-класу, зокрема, А-спіралі А-класу, характерної для 22-мірної консенсусної послідовності Segrest. Ці відмінності проілюстровані за допомогою вибраного як прикладу пептиду 4 (SEQ ID NO 4) на Фіг.3-5.

Звертаючись до Фіг.4А і 4В, можна побачити, що гідрофобна поверхня пептиду 4 характеризується більш могутніми гідрофобними властивостями в порівнянні з гідрофобною поверхнею 22-мірного консенсусного пептиду Segrest. Зокрема, залишки 5, 9 і 13 (затінені на Фіг.4В) є в послідовності пептиду 4 гідрофобними залишками лейцину (L) (SEQ ID NO 4) в порівнянні із зарядженими залишками, що є в консенсусному 22-мірному пептиді (SEQ ID NO 75). Заміна цих трьох заряджених залишків в консенсусній 22-мірній послідовності Segrest на гідрофобні залишки лейцину (L) приводить до вияву істотних відмінностей по параметрах амфіпатичності, гідрофобності, величині кута "pho" і іншим характеристикам даної спіралі.

Порівняння фізичних і структурних властивостей двох вибраних в якості прикладу базових пептидів формули (I) пептиду 4 (SEQ ID NO 4) і пептиду 8 (SEQ ID NO 8) і консенсусної 22-мірної послідовності Segrest (SEQ ID NO 75) представлено нижче в таблиці 2.

Таблиця 2			
Порівняння властивостей вибраних в якості прикладу пептидів з консенсусним 22-мірним поліпептидом Segrest			
Властивість	22- мір	пептид 4	пептид 8
Число амінокислот	22	22	22
Число гідрофільних амінокислот	13	10	10
Число гідрофобних амінокислот	9	12	12
Частка гідрофобних амінокислот	41%	55%	55%
$\langle H_o \rangle$	-0,293	-0,013	-0,040
$\langle H_o^{pho} \rangle$	0,960	0,990	0,940
$\langle M_n \rangle$	0,425	0,547	0,521
кут "pho"	100°	200°	200°
Число позитивно заряджених	5	4	4
Число негативно заряджених	6	4	4
Сумарний заряд	-1	0	0

Важливо зазначити, що базові пептиди формули (I) включають більше число гідрофобних залишків, характеризуються істотно більш високими значеннями $\langle H_o \rangle$ і $\langle M_n \rangle$ і характеризуються вдвічі більшим кутом "pho" (див. Фіг.5А і 5В). Ці відмінності у властивостях зумовлюють істотну диференційовку їх активності. При тому, що консенсусний 22-мірний поліпептид Segrest (SEQ ID NO 75) виявляє тільки 10%-у активацію LCAT в

порівнянні з нативним ApoA-I в тесті, описаному в даній заявці, пептиди 4 (SEQ ID NO 4) і 8 (SEQ ID NO 8) виявляють 93%-ий і 83%-ий рівні активації LCAT, відповідно, в порівнянні з нативним ApoA-I, що оцінювався в тому ж самому тесті. Пептид 1 (PVLDLFRELLNELLEZLK-QKLK; SEQ ID NO 1) і пептид 2 (GVLDLFRELLNELLEALKQKLKK; SEQ ID NO 2) виявляють 120%-у і 105%-у активацію LCAT, відповідно, в порівнянні з нативним ApoA-I, що оцінюється в тому ж самому тесті.

Деякі амінокислотні залишки в складі базових пептидів формули (I) можуть бути замінені іншими амінокислотними залишками без істотного негативного впливу, а в багатьох випадках і з посиленням активності цих пептидів. Отже, даним винаходом також представляються змінені або мутовані форми базових пептидів формули (I), при тому, що принаймні один певний амінокислотний залишок в структурі замінюється іншим амінокислотним залишком. Оскільки одна з критичних властивостей, що впливають на активність базових пептидів по даному винаходу, розглядається як здатність утворювати в присутності ліпідів А-спіралі, які виявляють амфіпатичні і інші властивості, описані вище, то повинно бути зрозуміло, що в переважних варіантах даного винаходу амінокислотні заміни є консервативними, тобто замінюючи амінокислотні залишки характеризуються фізичними і хімічними властивостями, схожими з такими у амінокислотних залишків, що замінюються.

Для цілей визначення консервативних амінокислотних заміни амінокислоти можуть бути стандартним чином класифіковані на дві базові категорії - гідрофільні і гідрофобні: насамперед, розділення залежить від фізико-хімічних характеристик бічних ланцюгів амінокислот. Ці дві основні категорії можуть бути далі класифіковані на дві підгрупи, які більш детально характеризують властивості бічних ланцюгів амінокислот. Наприклад, категорія гідрофільних амінокислот може бути далі поділена на кислі, основні і полярні амінокислоти. Категорія гідрофобних амінокислот може бути далі поділена на неполярні і ароматичні амінокислоти. Визначення різних категорій амінокислот, які визначають склад формули (I), такі.

Термін "гідрофільна амінокислота" означає амінокислоту, що виявляє властивість гідрофобності нижче за 0 у відповідності зі стандартною шкалою гідрофобності за Ейзенбергом (Eisenberg et al., 1984, J.Mol. Biol., 179, 125-142). Гідрофільні амінокислоти, що генетично кодуються включають треонин (Т), серин (S), гістидин (H), глутамінову кислоту (Е), аспарагін (N), глутамін (Q), аспарагін (D), лізин (K) і аргінін (R).

Термін "кисла амінокислота" означає гідрофільну амінокислоту, в якій бічний ланцюг характеризується значенням рК, меншим 7. Кислі амінокислоти звичайно мають негативно заряджені бічні ланцюги при фізіологічних значеннях рН через втрату іона водню. Кислими амінокислотами, що генетично кодуються є глутамінова кислота (Е) і аспарагінова кислота (D).

Термін "основна амінокислота" означає гідрофільну амінокислоту, в якій бічний ланцюг характеризується значенням рК, більшим за 7. Кислі амінокислоти звичайно мають позитивно заряджені бічні ланцюги при фізіологічних значеннях рН через втрату іона гідроксонія. Кислими амінокислотами, що генетично кодуються є гістидин (H), аргінін (R) і лізин (K).

Термін "полярна амінокислота" означає гідрофільну амінокислоту з незарядженим бічним ланцюгом при фізіологічних значеннях рН, але в якій є принаймні один зв'язок, в якому пара електронів, спільна для двох атомів, знаходиться ближче до одного з цих атомів. Полярними амінокислотами, що генетично кодуються є аспарагін (N), глутамін (Q), серин (S) і треонін (T).

Термін "гідрофобна амінокислота" означає амінокислоту, що виявляє властивість гідрофобності вище за 0 у відповідності зі стандартною шкалою гідрофобності за Ейзенбергом (Eisenberg et al., 1984, J.Mol. Biol., 179, 125-142). Гідрофільні амінокислоти, що генетично кодуються включають пролін (P), ізолейцин (I), фенілаланін (F), валін (V), лейцин (L), триптофан (W), метіонін (M), аланін (A), гліцин (G) і тирозин (Y).

Термін "ароматична амінокислота" означає гідрофобну амінокислоту, в бічному ланцюгу якої є принаймні одне ароматичне або гетероциклічне кільце. Ароматичне або гетероциклічне кільце може включати один або більше число заступників, таких як -OH, -SH, -CN, -F, -Cl, -Br, -I, -NO₂, -NO, -NH₂, -NHR, -NRR, -C(O)R, -C(O)OH, -C(O)OR, -C(O)NH₂, -C(O)NHR, -C(O)NRR і подібне, де кожний з R незалежно представлений Сі₆-алкілом, заміщеним С₁₋₆-алкілом, С₁₋₆-алкенілом, заміщеним С₁₋₆-алкенілом, С₁₋₆-алкінілом, заміщеним С₁₋₆-алкінілом, С₅₋₂₀-арилом, заміщеним С₅₋₂₀-арилом, С₆₋₂₆-алкарилом, заміщеним С₆₋₂₆-алкарилом, 5-20-атомним гетероарилом, заміщеним 5-20-атомним гетероарилом, 6-26-атомним алкгетероарилом і заміщеним 6-26-атомним алкгетероарилом. Генетичними ароматичними амінокислотами, що кодуються є фенілаланін (F), тирозин (Y) і триптофан (W).

Термін "неполярна амінокислота" означає гідрофобну амінокислоту, що характеризується незарядженим бічним ланцюгом при фізіологічних значеннях рН і що має зв'язки, в яких пара електронів, що є спільними для двох атомів, знаходяться на рівній відстані від кожного з цих атомів (тобто бічний ланцюг не є полярним). Неполярними амінокислотами, що генетично кодуються є лейцин (L), валін (V), ізолейцин (I), метіонін (M), гліцин (G) і аланін (A).

Термін "аліфатична амінокислота" означає гідрофобну амінокислоту, що характеризується наявністю аліфатичного вуглеводневого бічного ланцюга. Аліфатичними амінокислотами, що генетично кодуються є аланін (A), валін (V), лейцин (L) і ізолейцин (I).

Амінокислотний залишок цистеїну (C) незвичайний в тому, що він може утворювати дисульфідні зв'язки з іншими залишками (C) або іншими амінокислотами, що містять сульфонільну групу. Здатність залишків цистеїну (C) (як і інших амінокислот, що мають групу -SH як бічний ланцюг) існувати як у відновленій формі -SH, так і в окисненому стані у вигляді дисульфідного "містка" впливає на внесок цистеїну (C) у величину гідрофобності/гідрофільності пептиду. Якщо цистеїн (C) характеризується величиною гідрофобності 0,29 згідно з нормалізованою шкалою за Ейзенбергом (Eisenberg, 1984, цит. вище), то повинно бути зрозуміло, що, виходячи

з цілей даного винаходу, цей залишок (С) класифікується як полярна гідрофільна амінокислота, незалежно від загальних установок для описаної вище класифікації.

Як повинно бути зрозуміло фахівцям в даній області техніки, визначені вище категорії не є взаємовиключними. Отже, амінокислоти, що характеризуються бічними ланцюгами, що виявляють два і більше типів фізико-хімічних властивостей можуть бути віднесені до "множинних категорій". Наприклад, бічні ланцюги амінокислот, що включають ароматичні складові, які крім того заміщені полярними заступниками, такі як тирозин (Y), можуть виявляти і ароматичні гідрофобні властивості, і полярні або гідрофільні властивості, тобто, відповідно, можуть бути включені в категорії і ароматичних, і полярних амінокислот. Конкретна класифікація будь-якої амінокислоти буде очевидною для фахівця в даній області техніки, зокрема, в світлі докладних описів, включених в даний текст.

Деякі амінокислотні залишки, що позначаються як "розриваючи спіраль амінокислоти", мають властивість розривати структуру А-спіралей тоді, коли вони знаходяться у внутрішніх положеннях такої спіралі. Амінокислотні залишки, що виявляють такі властивості розривання спіралей, добре відомі в даній області техніки (див., наприклад, Chou & Fasman, Ann. Rev. Biochem., 47, 251-276) і включають пролін (P), гліцин (G) і потенційно всі D-амінокислоти (тоді, коли вони "падають" до складу L-амінокислотного пептиду; і навпаки, L-амінокислоти розривають спіральні структури, що утворюються D-пептидом). Хоч ці "розриваючи спіраль" амінокислоти і попадають в позначені вище категорії, за винятком гліцину (G) (що буде обговорюватися в даному тексті), ці залишки не повинні використовуватися для заміни амінокислотних залишків у внутрішніх положеннях в межах спіралі - тобто вони можуть бути використані тільки для заміни 1-3 амінокислотних залишків в складі N-кінцевої частини і (або) C-кінцевої частини конкретного пептиду.

При тому, що в якості прикладів в описаних вище категоріях були приведені амінокислоти, генетично детерміновані (що кодуються), проте немає необхідності, а в деяких конкретних варіантах і переважно немає необхідності в замінах, що обмежуються амінокислотами, що генетично кодуються. Дійсно, багато які з переважних пептидів формули (I) включають амінокислоти, що не кодуються генетично. Отже, в доповнення до амінокислот, що зустрічаються в живій природі і тим, що кодуються генетично, амінокислоти базових пептидів формули (I) можуть бути заміщені з використанням амінокислот що зустрічаються в природі, але й амінокислот, що генетично не кодуються, а також синтетичних амінокислот.

Деякі амінокислоти, що звичайно розглядаються, які представляють перспективний об'єкт для заміни до складу базових пептидів формули (I), включають, тим самим не обмежуючись, В-аланін (B-Ala) і інші ω -амінокислоти, такі як 3-амінопропіонова кислота, 2,3-діамінопропіонова кислота (Dpr), 4-амінобутирова кислота і т.д.; А-аміноізобутирову кислоту (Aib), Е-аміногексаноеву кислоту (Aha), δ -аміновалеріанову кислоту (Ava), N-метилгліцин або саркозин (MeGly), орнитин (Orn), цитрулін (Cit), трет-бутилананін (t-BuA), трет-бутилгліцин (t-BuG), N-метилізолейцин (Melle), фенілгліцин (Phg), циклогексилалананін (Cha), норлейцин (Nle), нафтилананін (Nal), 4-хлорфенілананін (Phe-4-Cl), 2-фторфенілананін (Phe-2-F), 3-фторфенілананін (Phe-3-F), 4-фтор-фенілананін (Phe-4-F), пеніциламін (Pen), 1,2,3,4-тетрагідроізохінолін-3-карбонову кислоту (Tic), В-2-тієнілананін (Thi), метіонінсульфоксид (MSO), гомоаргінін (hArg), N-ацетилізин (AcLys), 2,4-діамінобутирова кислота (Dbu), 2,3-діамінобутиро-аланін (Dab), р-амінофенілананін (Phe-pNH₂), N-метилвалін (MeVal), гомоцистеїн (hCys), гомофеніл-аланін (hPhe) і гомосерин (hSer), гідроксипролін (Hyp), гомопролін (hPro), N-метильовані амінокислоти і пептоїди (N-заміщені гліцини).

Класифікації генетично кодованих і звичайних некодованих амінокислот відповідно до категорій, визначених вище, підсумовані нижче в табл.3. Повинно бути зрозуміло, що таблиця 3 наведена тільки як ілюстративний матеріал і не покликана служити вичерпним списком амінокислот, які б могли бути використані для заміни до складу базових пептидів, що представляються даним винаходом. Інші, конкретно не обумовлені в даному тексті, амінокислоти легко можуть бути класифіковані на основі їх фізичних і хімічних властивостей в світлі характеристик, описаних в даному тексті.

Таблиця 3		
Класифікація амінокислот, що звичайно використовуються		
Класифікація	Генетично кодовані	Генетично некодовані
Гідрофобні		
-""- ароматичні	F, Y, W	Phg, Nal, Thi, Tic, Phe-4-Cl, Phe-2-F, Phe-3-F, Phe-4-F, hPhe
-""- неполярні	L, V, I, M, G, A, P	t-BuA, t-BuG, Melle, Nle, MeVal, Cha, MeGly, Aib
-""- аліфатичні	A, V, L, I	B-Ala, Dpr, Aib, Aha, MeGly, t-BuA, t-BuG, Melle, Cha, Nle, MeVal
Гідрофільні		
-""- кислі	D, E	
-""- основні	H, D, O, R	Dpr, Orn, hArg, Phe-pNH ₂ , Dbu, Dab
-""- полярні	C, Q, N, S, T	Cit, AcLys, MSO, B-Ala, hSer
"розривачі спіралі"	P, G	D-Pro і інші D-амінокислоти в складі L-пептидів

При тому, що в більшості прикладів амінокислоти базових пептидів формули (I) заміняють з використанням L-амінокислот, заміни не обмежуються L-амінокислотами. Отже, також в поняття "змінені" або "мтовані" форми входять ті форми, які утворені внаслідок заміни L-амінокислоти на ідентичну D-амінокислоту (наприклад, L-аргінін $\rightarrow$ D-аргінін) або на D-амінокислоту тієї ж категорії або підгрупи (наприклад, L-аргінін $\rightarrow$ D-лізин), і навпаки. Дійсно, в деяких переважних варіантах, які є такими в зв'язку з пероральним введенням пацієнтам-савцям, доцільним є входження до складу пептиду, що вводиться принаймні однієї D-амінокислоти.

Пептиди, що включають такі D-амінокислоти, як вважається, більш стійкі до руйнування факторами ротової порожнини, кишечника або сироватки крові в порівнянні з пептидами, що складаються виключно з L-амінокислот.

Як відзначалося вище, D-амінокислоти характеризуються тенденцією до руйнування A-спіралей у разі заняття ними внутрішніх положень в A-спіралі, що утворюється L-пептидом. Більш того було встановлено, що деякі мутовані форми базових пептидів формули (I), які складаються виключно з D-амінокислот, виявляють істотно меншу здібність до активації ферменту LCAT, що визначається в описаному в даній заявці тесті, в порівнянні з ідентичними по послідовності пептидами, що складаються виключно з L-амінокислот. Отже, D-амінокислоти не повинні використовуватися для заміни L-амінокислот, що знаходяться у внутрішніх положеннях: заміни на D-амінокислоти повинні обмежуватися 1-3 амінокислотними залишками в N-кінцевій і (або) C-кінцевій частинах конкретного пептиду.

Як обговорювалося вище, амінокислота гліцин (G) загалом є "руйнуючим спіраль" залишком в тих випадках, коли вона знаходиться у внутрішніх положеннях пептиду. Вельми дивним заявниками представляється встановлення того, що, хоч спіральна структура базових пептидів по даному винаходу руйнується у відсутність ліпідів тоді, коли внутрішні по положенню залишки замінюються на гліцин (G), в присутності ліпідів такі включаючи гліцин (G) пептиди виявляють істотні позитивні властивості з утворення спіралі, так і по вияву активності. Наприклад, при тому, що пептид 8 (SEQ ID NO 8) виявляє тільки 20% утворення спіралі в буфері, 61-93%-а інтенсивність утворення спіралі спостерігалася в присутності ліпідів і 93%-а спіралізація була виявлена в присутності трифторетанола (TFE). Спіральна структура даного пептиду в присутності TFE була підтверджена із застосуванням ЯМР (див. тут розділ 7.3.5). Цікаво, що цей же пептид виявляв 83%-у ефективність по активації LCAT. Інші базові пептиди, що включають у внутрішніх положеннях залишки гліцину, також виявляють активацію LCAT на рівні >38% (див., наприклад, табл.10 в розділі 8.3.). Таким чином, хоч гліцин (G) загалом розглядається як "руйнуючий спіраль" залишок, проте гліцин (G) може бути використаний для заміни амінокислот у внутрішніх положеннях базових пептидів формули (I). Переважно, щоб тільки внутрішні залишки, розташовані на відстані не більше за один виток в кожний з боків від центральної осі пептиду (зокрема, у випадку пептидів, що складаються з парного числа амінокислот), замінювалися на гліцин (G). Крім того, переважно, щоб тільки один внутрішній амінокислотний залишок пептиду був заміщений на залишок гліцину (G). Переважні варіанти агоністів АроА-I по даному винаходу, які включають у внутрішніх положеннях залишки гліцину, описані тут в розділі 5.1.2.

З використанням класифікації амінокислотних залишків, представленої вище, в поєднанні з круговою схемою по Шифферу-Едмундсону і схемою у вигляді решітки, що застосовуються для базових пептидів формули (I), а також докладного опису бажаних властивостей, можуть бути легко отримані змінені або мутовані форми базових пептидів формули (I), які в істотній мірі зберігають амфіпатичні і інші властивості спіралі і які, отже, попадають в обсяг даного винаходу.

У переважному варіанті по даному винаходу змінені і мутовані форми базових пептидів формули (I) отримують шляхом збереження незмінними (фіксації) гідрофільних або гідрофобних залишків відповідно до формули (I) і заміни принаймні одного нефіксованого залишку на іншу амінокислоту, переважно на іншу амінокислоту з тієї ж категорії або підгрупи. Залишки, що складають основний і (або) гідрофобний кластери також можуть бути фіксовані, а принаймні один нефіксований залишок - замінений.

В іншому переважному варіанті змінені або мутовані форми базових пептидів формули (I) отримують шляхом фіксації гідрофільних амінокислотних залишків, розташованих на гідрофільній поверхні спіралі відповідно до формули (I) і заміни принаймні одного з нефіксованих амінокислотних залишків на іншу амінокислоту, переважно на іншу амінокислоту з складу тієї ж самої категорії або підгрупи. Звертаючись до Фіг.2 А, можна бачити, що залишки 1, 4, 7, 8, 11, 12, 15, 18, 19 і 22 розташовані на гідрофільній поверхні амфіпатичної спіралі, що утворюється базовими пептидами формули (I). Серед цих залишків всі є гідрофільними, за винятком 1-го залишку, який може бути або гідрофільним, або гідрофобним. Отже, в одному з переважних варіантів залишки 4, 1, 8, 11, 12, 15, 18, 19 і 22 є фіксованими відповідно до формули (I) і принаймні один із залишків 2, 3, 5, 6, 9, 10, 13, 14, 16, 17, 20 і 21 замінений на іншу амінокислоту тієї ж самої категорії, переважно на іншу амінокислоту тієї ж самої підгрупи. З іншого боку, 1-й залишок також є фіксованим відповідно до формули (I) і принаймні один із залишків 2, 3, 5, 6, 9, 10, 13, 14, 16, 17, 20 і 21 замінений відповідно до описаного.

У конкретному переважному варіанті C-кінцевий основний кластер (залишки 18, 19, 20 і 22) також є фіксованим відповідно до формули (I) і тільки залишки 2, 3, 5, 6, 9, 10, 13, 14, 16, 17 і (або) 21 можуть бути замінені.

В іншому конкретному переважному варіанті гідрофобний кластер також фіксується і тільки залишки 2, 5, 13, 14, 16, 17, 20 і (або) 21 можуть бути замінені.

Ще в одному конкретному переважному варіанті і основний, і гідрофобний кластери фіксуються і тільки залишки 2, 5, 13, 14, 16, 17 і (або) 21 можуть бути замінені.

В іншому переважному варіанті даного винаходу змінені або мутовані форми базових пептидів даного винаходу отримують шляхом фіксування гідрофобних амінокислотних залишків, розташованих на гідрофобній поверхні спіралі і заміни принаймні одного нефіксованого амінокислотного залишку на інший амінокислотний залишок, переважно на інший залишок з тієї ж категорії або підгрупи амінокислот.

Звертаючись до Фіг.2А, можна бачити, що залишки 2, 3, 5, 6, 9, 10, 13, 14, 16, 17, 20 і 21 розташовані в межах гідрофобної поверхні. З них всі амінокислоти є гідрофобними, за винятком гідрофільного 20-го залишку. Отже, в одному з переважних варіантів залишки 2, 3, 5, 6, 9, 10, 13, 14, 16, 17 і 21 є фіксованими відповідно до формули (I) і принаймні один із залишків 1, 4, 7, 8, 11, 12, 15, 18, 19, 20 і 22 замінений на інший амінокислотний залишок, переважно на інший амінокислотний залишок з тієї ж самої категорії або підгрупи.

У конкретному переважному варіанті С-кінцевий основний кластер також фіксують, і тільки залишки 1, 4, 7, 8,11, 12 і (або) 15 можуть бути замінені.

В іншому варіанті змінені або мутовані форми пептидів формули (I) отримують шляхом фіксації всіх амінокислотних залишків, що знаходяться в межах гідрофобної або гідрофільної поверхонь даної спіралі, і заміни, переважно по консервативній схемі, принаймні одного амінокислотного залишку, що знаходиться на протилежній поверхні, на інший амінокислотний залишок. Залишки, що формують гідрофобний кластер і (або) основний кластер, також можуть бути необов'язково фіксованими відповідно до формули (I) відповідно до визначеного вище.

В іншому варіанті даного винаходу змінені або мутовані форми формули (I) отримують шляхом заміни принаймні однієї амінокислоти на іншу амінокислоту по неконсервативній схемі. Для фахівця в даній області техніки буде зрозуміло, що подібні заміни не будуть в істотній мірі змінювати амфіпатичні і (або) структурні властивості спіралі, які розглядалися вище. Отже, у деяких випадках бажаною може бути заміна однієї або декількох пар амінокислот таким чином, щоб зберегти сумарні властивості всієї спіралі. Додаткові вказівки по вибору відповідних амінокислотних заміни представлені послідовностями пептидів, приведеними в табл.10 (див. розділ 8.3. даного тексту).

Ще в одному варіанті даного винаходу крайні 1-4 амінокислотні залишки по N-і (або) С-кінцю базових пептидів формули (I) замінюють на один або декілька амінокислотних залишків або на один або декілька пептидних сегментів, для яких відомі властивості по забезпеченню стабільності ділянок вторинної структури, створюючи А-спіраль (залишки або сегменти т.зв. "кінцевих кепов", або сегменти "кепування"). Такі "копіюючи" залишки і сегменти добре відомі в даній області техніки (див., наприклад, Richardson & Richardson, 1988, Science, 240, 1648-1652; Harper et al., 1993, Biochemistry, 32, 7605-7609; Dasgupta & Bell, 1993, Intern. J.Peptide Protein Res, 41, 499-511; Seale et al., 1994, Protein Sci, 3, 1741-1745; Doig et al., 1994, Biochemistry, 33, 3396-3403; Zhou et al., 1994, Proteins, 18, 1-7; Doig & Baldwin, 1995, Protein Sci, 4, 1325-1336; Odaert et al., 1995, Biochemistry, 34, 12820-12829; Petrukhov et al., 1996, Biochemistry, 35, 387-397; Doig et al., 1997, Protein Sci, 6, 147-155). З іншого боку, крайні 1-4 N-кінцеві і (або) С-кінцеві амінокислотні залишки формули (I) можуть бути замінені пептидоімітуючими складовими, які імітують структуру і (або) властивості кепуючих залишків або сегментів. Відповідні міметики-кепи добре відомі в даній області техніки і описані, наприклад, у Richardson & Richardson, 1988, Science, 240, 1648-1652; Harper et al, 1993, Biochemistry, 32, 7605-7609; Dasgupta & Bell, 1993, Intern. J.Peptide Protein Res, 41, 499-511; Seale et al, 1994, Protein Sci, 3, 1741-1745; Doig et al., 1994, Biochemistry, 33, 3396-3403; Zhou et al., 1994, Proteins, 18, 1-7; Doig & Baldwin, 1995, Protein Sci., 4, 1325-1336; Odaert et al., 1995, Biochemistry, 34, 12820-12829; Petrukhov et al., 1996, Biochemistry, 35, 387-397; Doig et al.. Protein Sci., 6,147-155.

При тому, що формула (I) включає 22 амінокислотних залишки, повинно бути зрозуміло, що базові пептиди по даному винаходу можуть включати менше за 22 амінокислотних залишки. Дійсно, укорочені або делетовані по внутрішніх положеннях варіанти формули (I), що включають 18 і навіть 15 амінокислотних залишків, які в істотній мірі зберігають основні характеристики і властивості амфіпатичної спіралі, що утворюється базовими пептидами формули (I), розглядаються як такі, що входять в обсяг даного винаходу.

Укорочені форми пептидів формули (I) отримують шляхом делетування однієї або більшого числа амінокислот з N- і (або) С-кінців формули (I). Делетовані по внутрішніх ділянках варіанти формули (I) отримують шляхом делетування однієї або більшого числа амінокислот з внутрішніх положень пептиду формули (I). Делетовані внутрішні амінокислотні залишки можуть розташовуватися, а можуть і не розташовуватися підряд.

Для фахівців в даній області техніки буде зрозуміло, що делетування внутрішньої амінокислоти з базового пептиду формули (I) повинно обумовити розворот площини гідрофільно-гідрофобного розділу на 100° в точці делеції.

Оскільки таке обертання може привести до істотних змін амфіпатичних властивостей спіралі, що утворюється внаслідок, то в переважному варіанті даного винаходу амінокислотні залишки делетують таким чином, щоб в істотній мірі зберегти розташування площини гідрофільно-гідрофобного зіткнення вздовж всієї довгої осі даної спіралі.

Цього можна досягти стандартним за рахунок делетування достатнього числа розташованих або нерозташованих підряд амінокислот таким чином, щоб в результаті був видалений повний виток спіралі. Ідеалізована А-спіраль містить 3,6 залишки на виток. Отже, в переважному варіанті делетують групи з 3-4 послідовно розташованих або нерозташованих підряд амінокислот. Буде делетуватися 3 амінокислоти, або 4 амінокислоти, буде залежати від положення в межах спіралі першого із залишків, що делетуються. Визначення реального числа розташованих або нерозташованих підряд амінокислотних залишків, які складають один повний виток спіралі, починаючи з будь-якої конкретної початкової точки в межах амфіпатичної спіралі, є досить простою задачею для фахівця в даній області техніки.

Через передбачувану важливість основного кластера, що знаходиться на С-кінці базових пептидів формули (I) в забезпеченні стабілізації спіралі і важливості гідрофобного кластера в забезпеченні ефективності скріплення ліпідів і активації LCAT, в переважних варіантах даного винаходу залишки, що складають основний і гідрофобний кластери, не делетують. Отже, в переважних варіантах залишки 18, 19, 20 і 22 (основний кластер) і залишки 3, 6, 9 і 10 (гідрофобний кластер) не делетують.

Базові пептиди формули (I) також можуть бути подовжені по одному з своїх кінців або добудовані по внутрішніх положеннях з використанням додаткових амінокислот, які в істотній мірі не порушували б, а в деяких варіантах навіть посилювали б структурні і (або) функціональні параметри пептидів. Дійсно, подовження базових пептидів до 23, 25, 26, 29 і навіть більшого числа амінокислотних залишків потрапляє в обсяг даного винаходу.

Переважно, щоб такі подовжені пептиди в істотній мірі зберігали загальні параметри амфіпатичності і інші властивості пептидів формули (I). Звичайно, повинно бути зрозуміло, що додання амінокислот всередині пептиду приведе до розвороту площини гідрофобно-гідрофільного інтерфейсу в точки вбудування по тому ж типу, як це відбувається у описаних вище випадках внутрішнього делетування. Отже, висновки, зроблені вище при описі внутрішніх делецій, в рівній мірі застосовні і для внутрішніх вставок.

В одному з варіантів базові пептиди подовжують по N- і (або) C-кінцю принаймні на один виток спіралі. Переважно, щоб такі добудови зумовлювали стабілізацію повторної спіральної структури в присутності ліпідів в тій же мірі, що і описані вище кеповані амінокислотами і сегментами пептиди.

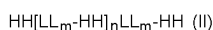
У конкретному переважному варіанті базові пептиди формули (I) добудовують по C-кінцю одним амінокислотним залишком, переважно лізином (K). Після добудови X_1 переважно представлений D-проліном (p) або гліцином (G); X_2 переважно представлений валіном (V); X_3 переважно представлений лейцином (L); X_4 переважно представлений аспарагіною кислотою (D); X_5 переважно представлений лейцином (L); X_6 переважно представлений фенілаланіном (F); X_7 переважно представлений аргініном (R); X_8 переважно представлений глутаміною кислотою (E); X_9 переважно представлений лейцином (L); X_{10} переважно представлений лейцином (L); X_{11} переважно представлений аспарагіном (N); X_{12} переважно представлений глутаміною кислотою (E); X_{13} переважно представлений лейцином (L); X_{14} переважно представлений лейцином (L); X_{15} переважно представлений глутаміною кислотою (E); X_{16} переважно представлений аланіном (A); X_{17} переважно представлений лейцином (L); X_{18} переважно представлений лізином (K); X_{19} переважно представлений глутаміном (Q); X_{20} переважно представлений лізином (K); X_{21} переважно представлений лейцином (L); і (або) X_{22} переважно представлений лізином (K).

Також в обсяг даного винаходу входять "заблоковані" форми агоніста АроА-I, тобто такі варіанти агоністів АроА-I, в яких N- і (або) C-кінець блокуються складовими, спроможними реагувати з N-кінцевою групою $-NH_2$ або з C-кінцевою групою $-COOH$. Було встановлено, що видалення N- і (або) C-кінцевого заряду у агоністів АроА-I по даному винаходу, що складаються з 18 або меншого числа амінокислотних залишків (шляхом синтезу N-ацильованих пептидних амідів/ефірів/гідрозидів/спиртів і їхніх заступників) зумовлює утворення агоністів, які зберігають і в деяких варіантах навіть перевершують активність незаблокованого варіанту конкретного агоніста. В деяких варіантах при наявності 22 або більшого числа амінокислотних залишків N- або C-кінцеве блокування зумовлює отримання агоністів АроА-I, які виявляють меншу активність в порівнянні з незаблокованими варіантами. Однак, блокування обох кінців (N і C) агоністів АроА-I, що складаються з 22 або більшого числа амінокислот, як очікується, приведе до відновлення активності. Отже, в переважному варіанті по даному винаходу або N- і (або) C-кінець (переважно обидва кінці) базових пептидів, що складаються з 18 або меншого числа амінокислот, заблоковані, в той час як N- і C-кінці пептидів, що складаються з 22 або більшого числа амінокислот, або обидва заблоковані, або обидва не заблоковані. Звичайно N-кінцеві блокуючі групи включають групу $RC(O)-$, де R представлений -H, C_{1-6} -алкілом, C_{1-6} -алкенилом, C_{1-6} -алкінілом, C_{5-20} -арилом, C_{6-26} -алкарилом, 5-20-атомними гетероарилом або 6-26-атомними алкгетероарилом. Переважними N-кінцевими блокуючими групами є ацетил, форміл і дансил. Звичайні C-кінцеві блокуючі групи включають групи $-C(O)NRR$ і $-C(O)OR$, де R незалежно визначаються відповідно до вказаного вище. Переважними C-кінцевими блокуючими групами є ті, в яких група R незалежно представлена метилом. Не торкаючись якої-небудь конкретної теорії, можна вважати, що такі кінцеві блокуючі групи стабілізують А-спіраль в присутності ліпідів (див., наприклад, Venkatachalapathi et al., 1993, Proteins: Struct, Funct. & Genet., 15, 349-359).

Нативна структура АроА-I включає вісім спіральних одиниць, які, як вважається, діють відповідно до процесу скріплення ліпідів (Nakagawa et al., 1985, J.Amer. Chem. Soc, 107, 7087-7092; Anantharamaiah et al., 1985, J.Biol. Chem., 260, 10248-10262; Vanloo et al., 1991, J.Lipid Res., 32, 1253-1264; Mendez et al., 1994, J.Clin. Invest., 94, 1698-1705; Palgunari et al., 1996, Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biol., 16, 328-338; Demoor et al., 1996, Eur. J.Biochem., 239, 74-84). Отже, також в обсяг даного винаходу входять агоністи АроА-I, що є димерами, тримерами, тетрамерами і навіть полімерами більш високого порядку ("мультимери") базових пептидів, описаних в даній заявці. Такі мультимери можуть бути влаштовані у вигляді тандемних повторів, розгалужених конструкцій або поєднувати їх. Базові пептиди можуть бути напряму приєднані один до одного або розділені одним або декількома лінкерами.

Базовими пептидами, які утворюють мультимери, можуть бути пептиди формули (I), аналоги формули (I), мutowані варіанти формули (I), укорочені або делетовані по внутрішніх положеннях варіанти формули (I), добудовані варіанти формули (I) і (або) їх поєднання. Базові пептиди можуть бути сполучені "голова-до-хвоста" (тобто N-кінець до C-кінця), "голова-до-голови" (тобто N-кінець до N-кінця), "хвіст-до-хвоста" (тобто C-кінець до C-кінця) або шляхом поєднання цих орієнтацій.

В одному з варіантів даного винаходу мультимери організовані у вигляді тандемних повторів, що складаються з двох, трьох, чотирьох і аж до десяти базових пептидів. Переважними є мультимери, складені тандемними повторами від двох до восьми базових пептидів. Отже, в одному з варіантів агоністи АроА-I по даному винаходу включають мультимери, що характеризуються наступною структурною формулою:



де:

кожний показник m незалежно один від іншого є цілим числом від 0 до 1, переважно рівний 1;
n є цілим числом від 0 до 10, переважно від 0 до 8;

кожний "НН" незалежно представляє базовий пептид або пептидний аналог (I) або її мутовану, укорочену, делетовану по внутрішньому положенню або добудовану форму відповідно до описаного в даній заявці;

кожний "LL" незалежно представляє лінкер; і кожний знак "-" незалежно означає ковалентний зв'язок.

У формулі (II) лінкер LL може бути представлений будь-якою біфункціональною молекулою, здатною забезпечувати ковалентний зв'язок одного пептиду з іншим. Отже, відповідні лінкери - це біфункціональні молекули, в яких функціональні групи здатні утворювати ковалентний зв'язок з N-і (або) C-кінцем пептида. Функціональні групи, придатні для приєднання до N- або C-кінцю пептидів, добре відомі в даній області техніки, рівно як і відомі відповідні хімічні прийоми для забезпечення ефективного утворення таких зв'язків.

Лінкер може мати гнучку, жорстку або напівжорстку структуру, що залежить від бажаних властивостей конкретного мультимера. Відповідні лінкери включають, наприклад, амінокислотні залишки, такі як пролін або гліцин, або пептидні сегменти, що включають від приблизно 2 до приблизно 5, 10, 15 або 20, або навіть більшого числа амінокислот, біфункціональні органічні сполуки, такі як $H_2N(CH_2)_nCOOH$, де n є цілим числом від 1 до 12, і подібне. Приклади таких лінкерів, рівно як і способи отримання таких лінкерів і пептидів, що включають такі лінкери, добре відомі в даній області техніки (див., наприклад, Hunig et al., 1974, Chem. Ber., 100, 3039-3044; Basak et al., 1994, Bioconjug. Chem., 5, 301-305).

У переважному варіанті даного винаходу тандемні повтори у внутрішніх своїх ділянках уриваються одиночними залишками проліна. У цьому значенні в таких варіантах, де базові пептиди включають на N- або C-кінці залишок проліна, таких як наявність на місці X_1 в формулі (I) проліна (P) або D-проліна (p), то m в формулі (II) переважно дорівнює 0. В тих варіантах, в яких на N- або C-кінці пептиду немає залишку проліна, лінкером переважно є пролін (P) або D-пролін (p), а m переважно дорівнює 1.

У деяких варіантах даного винаходу бажаним може бути використаний лінкерів, що розщеплюються, за допомогою яких можна відділяти один або декілька спіральних сегментів (НН) за конкретних умов. Відповідними лінкерами, що розщеплюються є пептиди, які характеризуються амінокислотними послідовностями, які розпізнаються протеазами, олігонуклеотиди, які розщеплюються ендонуклеазами, і органічні сполуки, які можуть бути розщеплені хімічним шляхом, наприклад, в умовах кислоти або лужної середи, або в інших умовах. Переважно, умови розщеплення повинні бути досить м'якими, щоб не зумовлювати денатурацію або які-небудь інші порушення спіральних сегментів і (або) непризначених до розщеплення лінкерів в складі мультимерних агоністів АроА-I.

Пептидні і олігонуклеотидні лінкери, які можуть бути вибірним чином розщеплені, а також способи розщеплення лінкерів добре відомі і легко доступні фахівцям в даній області техніки. Відповідні лінкери у вигляді органічних сполук, які можуть бути вибірним чином розщеплені, будуть очевидні для фахівців в даній області техніки і включають те, що, наприклад, було описано в міжнародній заявці WO 94/08051 і в матеріалах, що цитуються в ній.

У переважному варіанті лінкерами, що використовуються є пептиди, які служать субстратом для ендогенних циркулюючих (позаклітинних) ферментів, що тим самим забезпечує мультимерним агоністам АроА-I здатність виборчо розщеплюватися *in vivo*. Ендогенним ферментом, придатним для розщеплення таких лінкерів, є, наприклад, пропептидаза проаполіпопротеїна А-I. Відповідні ферменти, а також пептидні сегменти, що служать субстратом для таких ферментів, добре відомі в даній області техніки (див., наприклад, Edelstein et al., 1983, J.Biol. Chem., 258, 11430-11433; Zanis, 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 2574-2578).

Як обговорювалося вище, ключовою властивістю базових пептидів по даному винаходу є їх здатність утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки або сольові "містки" при вибудуванні в антипаралельній орієнтації. Отже, в переважному варіанті даного винаходу лінкери достатньої довжини і гнучкості використовуються таким чином, щоб забезпечувати спіральним сегментам (НН) формули (II) можливість шикуватися в антипаралельній орієнтації і в присутності ліпідів утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки або сольові "містки".

Лінкери достатньої довжини і гнучкості включають, тим самим не обмежуючись, пролін (P), гліцин (G), Cys-Cys, $H_2N-(CH_2)_n-COOH$, де n рівне від 1 до 12, переважно від 4 до 6, H_2N -арил- $COOH$ і вуглеводи.

З іншого боку, оскільки нативні аполіпопротеїни забезпечують скріплення між розташованими антипаралельно спіральними сегментами, пептидні лінкери, які відповідають по своїй амінокислотній послідовності пептидним сегментам, що примикають до спіралей нативних аполіпопротеїнів, включаючи, наприклад, АроА-I, АроА-II, АроА-IV, АроС-I, АроС-II, АроС-III, АроD, АроЕ і АроJ, можуть бути стандартним чином використані для скріплення базових пептидів. Такі послідовності добре відомі в даній області техніки (див., наприклад, Rosseneu et al., 1992, "Analysis of the primary and of the secondary structure of the apolipoproteins", "In Structure & Function of Lipoproteins", Ch.6, pp.159-183, CRC Press Inc.).

Іншими лінкерами, що забезпечують утворення міжмолекулярних водневих зв'язків або сольових "містків" між тандемними повторами антипаралельно орієнтованих спіральних сегментів, є зворотні пептидні витки, такі як В-вигини і Г-вигини, рівно як і органічні молекули, які імітують структури пептидних В-вигинів і (або) Г-вигинів. Загалом, зворотні витки - це сегменти пептидів, які розвертають напрям поліпептидного ланцюжка таким чином, щоб забезпечити одинарному поліпептидному ланцюжку можливість пристосувати такі свої ділянки, як антипаралельна В-площина або А-спіраль, В-вигин загалом складений чотирма амінокислотними залишками, а Г-вигин звичайно складений трьома амінокислотними залишками.

Конформації і послідовності багатьох пептидних В-вигинів добре відомі в даній області техніки і включають, тим самим не обмежуючись, названі в якості прикладів тип-I, тип-I', тип-II, тип-II', тип-III, тип-III', тип-IV, тип-V, тип-V', тип-VIa, тип-VIb, тип-VII і тип-VIII (див. Richardson, 1981, Adv. Protein Chem, 34, 167-339; Rose et al., 1985, Adv. Protein Chem., 37, 1-109; Wilmot et al., 1988, J.Mol. Biol., 203, 221-232; Sibanda et al., 1989, J.Mol. Biol., 206, 759-777; Tramontane et al., 1989, Proteins: Struct. Funct. & Genet,

6, 382-394).

Вигнутість конкретних конформацій коротких пептидів з утворенням В-вигину насамперед залежить від розташування деяких амінокислотних залишків у вигині (звичайно Gly, Asn або Pro). Звичайно В-вигин типу-I сумісний з будь-яким амінокислотним залишком в положенні від 1-го до 4-го, за винятком того, що пролін не повинен займати 3-є положення. У складі типу-I і типу-II в положенні 4 переважає залишок гліцина, а в положенні 2 переважає пролін. У положенні 1 часто знаходяться залишки Asp, Asn, Ser і Cys, при тому, що їх бічні ланцюги часто утворюють водневі зв'язки з NH в складі 3-го залишку.

У вигинах типу-II залишки гліцина і аспарагіна найчастіше знаходяться в 3-му положенні, тому що вони найбільш легко забезпечують пристосування необхідних кутів у вуглецевому ланцюгу. В ідеальній ситуації вигини типу-I' мають залишки гліцина в положеннях 2 і 3, а у вигині типу-II' гліцин знаходиться в положенні 2. У вигині типу-III можуть знаходитися більшість амінокислотних залишків, в той час як в типі-III', як правило, у 2-му і 3-му положеннях потрібна присутність гліцина. У вигинах типу-VIa і типа-VIb звичайно є циспептидний зв'язок і присутній залишок проліна у внутрішньому положенні. Для ознайомлення з оглядом, що описує різні типи і послідовності В-вигинів в білках і пептидах, читач може ознайомитися з працею Wilmot et al., 1988, J.Mol. Biol., 203, 221-232.

Конформації і послідовності багатьох пептидних Г-вигинів також добре відомі в даній області техніки (див., наприклад, Rose et al., 1985, Adv. Protein Chem., 37, 1-109; Wilmer-White et al., 1987, Trends Biochem. Sci., 12, 189-192; Wilmot et al., 1988, J.Mol. Biol. 203, 221-232; Si-banda et al./ 1989, J.Mol. Biol., 206, 759-777; Tramontano et al., 1989, Proteins: Struct., Funct. & Genet., 6, 382-394). Всі дані типи В-вигинів і Г-вигинів і відповідні ним амінокислотні послідовності, рівно як і пізніше описані структури і послідовності пептидних В-вигинів і Г-вигинів конкретним чином представляються даним винаходом.

З іншого боку, лінкер (LL) може включати органічну молекулу або складову, яка імітує структуру пептидного В-вигину або Г-вигину. Такі складові, що імітують В-вигини і (або) Г-вигини, рівно як і способи синтезу пептидів, що включають такі складові, добре відомі в даній області техніки і включають, крім іншого, те, що описано в-працях Giannis & Kolter, 1993, Angew. Chem. Intl. Ed. Eng., 32, 1244-1267; Kahn et al., 1988, J.Mol. Recognition, 1, 75-79; Kahn et al., 1987, Tetrahedron Lett., 28, 1623-1626.

Ще в одному варіанті даного винаходу мультимери мають форму розгалуженої структури (див., наприклад, Фіг.7). Такі структури стандартним чином отримують з використанням багатофункціональних зв'язуючих складових, які забезпечують приєднання до простої зв'язуючої складової більш ніж двох спіральних одиниць. Отже, розгалужені структури засновані на молекулах, що мають три, чотири або навіть більше число функціональних груп, які здатні ковалентно приєднуватися до N-і (або) C-кінцю пептиду. Відповідні зв'язуючі складові, наприклад, включають амінокислотні залишки, що характеризуються бічними ланцюгами, що несуть гідроксильні, сульфанільні, аміно, карбоксильні, амідні і (або) ефірні функціональні групи, такі як, наприклад, Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gin (Q), Lys (K), Arg (R), Orn, Asp (D) і Glu (E) або інші органічні молекули, що включають такі функціональні групи.

Спіральні сегменти, приєднані до однієї зв'язуючої складової, не обов'язково повинні бути приєднані однаковими кінцями. Дійсно, в деяких варіантах спіральні сегменти приєднані до однієї зв'язуючої складової таким чином, щоб забезпечити антипаралельну орієнтацію, і при цьому деякі спіралі приєднані по своїх N-кінцях, а інші - по своїх C-кінцях.

Спіральні сегменти можуть бути приєднані напряму до зв'язуючої складової або можуть відділені від зв'язуючої складової за допомогою одного або декількох біфункціональних лінкерів (LL) відповідно до описаного вище.

Звертаючись до Фіг.7A і 7B, можна бачити, що розгалужена структура може бути описана в термінах числа "вузлів гілкування", що складають таку структуру, де вузол являє собою багатофункціональну зв'язуючу складову. На Фіг.7A і 7B спіральні сегменти (наприклад, базові пептиди по даному винаходу) зображені у вигляді циліндрів, а багатофункціональні зв'язуючі складові (або "вузли") позначені кільцями (*), де число ліній, що виходять з кільця, означає "порядок" (суть число функціональних груп) для багатофункціональної зв'язуючої складової.

Число "вузлів гілкування" в даній структурі загалом залежить від загальної бажаної кількості спіральних сегментів і звичайно складає від 1 до 2. Звісно, повинно бути зрозуміло, що для даного числа бажаних спіральних сегментів структури, що базуються на зв'язуючих складових більш високого порядку, зможуть включати менше число "вузлів". Наприклад, звертаючись до Фіг.7A і 7B, структура 3-го порядку (тобто структура, що включає 3-функціональні зв'язуючі складові) для семи спіральних одиниць має три "вузли" (Фіг.7A), в той час як структура 4-го порядку (тобто структура, що включає 4-функціональні зв'язуючі складові) для семи спіральних одиниць має тільки два "вузли" (Фіг.7B).

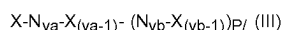
Структури можуть характеризуватися однотипними порядками: тобто в таких структурах всі "вузли" є, наприклад, 3-функціональними або 4-функціональними зв'язуючими складовими, або ж можуть мати змішані по порядку "вузли гілкування", наприклад, при одночасній наявності 3-функціональних і 4-функціональних зв'язуючих складових. Звичайно, повинно бути зрозуміло, що навіть в структурах з гілкуваннями одного порядку зв'язуючі складові не повинні бути ідентичними. У структурі з гілкуваннями третього порядку можуть використовуватися, наприклад, дві, три, чотири або навіть більше різних трифункціональних зв'язуючих складових.

Як і лінійні мультимери, спіральні сегменти, що входять до складу розгалужених структур, можуть, а можуть і не бути ідентичними.

Приклад такої структури зі змішаними порядками гілкування показаний на Фіг.1C. На Фіг.1C спіральні

сегменти (тобто базові пептиди по даному винаходу) показані у вигляді циліндрів, а багатофункціональні зв'язуючі складові показані у вигляді кільців (*), де число ліній, що виходять з кільця, відповідає "порядку" (суть числу функціональних груп) багатофункціональної зв'язуючої складової. Лінії, зв'язуючі спіральні сегменти, представляють біфункціональні лінкери LL у відповідності до раніше описаного. Спіральні сегменти, які складають розгалужені структури, можуть бути тандемними повторами базових пептидів у відповідності до раніше описаного.

В одному з ілюстративних варіантів розгалужені структури по даному винаходу описуються наступною формулою:



де

кожний X незалежно представлений $HN-[LL_m-NH]_n-LL_m-NH$;

кожний NH незалежно представлений базовим пептидом формули (I) або його аналогом, або мутованим, укороченим, делетованим по внутрішньому положенню або добудованим варіантом відповідно до описаного в даному тексті;

кожний LL незалежно представлений біфункціональним лінкером;

кожний m незалежно є цілим числом від 0 до 1;

кожний n незалежно є цілим числом від 0 до 8;

N_{y_a} і N_{y_b} незалежно один від іншого є багатофункціональною зв'язуючою складовою, де y_a і y_b представляють число функціональних груп, відповідно, в N_{y_a} і N_{y_b} ;

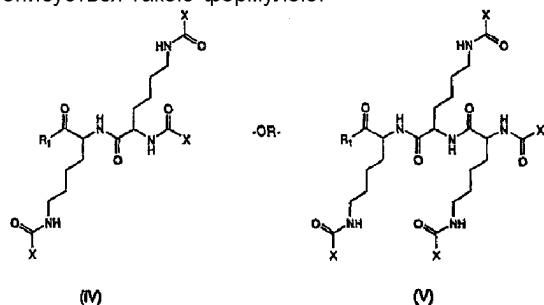
кожний y_a або y_b незалежно є цілим числом від 3 до 8;

p є цілим числом від 0 до 7; і

кожний знак "-" незалежно означає ковалентний зв'язок.

У переважному варіанті розгалужена структура включає "лізинове дерево", тобто є структурою, в якій багатофункціональна зв'язуюча складова є одиночним або серією залишків лізіна (K) (див., наприклад, Фіг.7D).

В одному ілюстративному варіанті "лізинове дерево" в розгалуженій структурі по даному винаходу описується такою формулою:



(IV)

(V)

де

кожний X незалежно представлений $HN-[LL_m-NH]_n-LL_m-NH$;

кожний NH незалежно представлений базовим пептидом формули (I) або його аналогом, або мутованим, укороченим, делетованим по внутрішньому положенню або добудованим варіантом відповідно до описаного в даному тексті;

кожний LL незалежно представлений біфункціональним лінкером,

кожний n незалежно є цілим числом від 0 до 8;

кожний m незалежно є цілим числом від 0 до 1;

R_1 є -OR або -NRR; і

кожний R незалежно представлений -H, C_{1-6} -алкілом, C_{1-6} -алкенілом, C_{1-6} -алкінілом, C_{5-20} -арилом, C_{6-26} -алкарілом, 5-20-атомним гетероарилом або 6-26-атомним алкгетероарилом.

5.1.1. Аналіз структури і функцій

Структура і функції базових пептидів або пептидних аналогів по даному винаходу, рівно як і агоністи АроА-I, складені такими базовими пептидами, включаючи мултимерні форми, описані вище, можуть бути протестовані з метою вибору активних агоністів або міметиків АроА-I. Наприклад, базові пептиди або пептидні аналоги можуть бути протестовані по їх здатності утворювати А-спіралі в присутності ліпідів, зв'язуватися з ліпідами, утворювати комплекси з ліпідами, активувати LCAT, сприяти виходу холестерину з клітин і т.п.

Методи і тести, призначені для аналізу структури і (або) функцій пептидів добре відомі в даній області техніки. Переважні методи охарактеризовані в прикладах, описаних в даному тексті. Наприклад, тести на основі кругового дихроїзма (КД) і ядерного магнітного резонансу (ЯМР), описані тут в розділі 7, можуть бути використані для аналізу структури пептидів або пептидних аналогів -зокрема, для визначення "ступеня спіральності" в присутності ліпідів. Здатність зв'язуватися з ліпідами може бути визначена з використанням флуоресцентної спектроскопії, тест на основі якої описаний тут в розділі 7. Здатність пептидів і (або) пептидних аналогів активувати фермент LCAT може бути легко визначена з використанням тесту на активацію LCAT, описаного тут в розділі 8. Тести in vitro та in vivo, описані тут в розділах 9, 10 і 11, можуть бути використані для оцінки часу півжиття, розподілу, інтенсивності виходу холестерину і впливу на ОТХ.

Загалом, базові пептиди і (або) пептидні аналоги по даному винаходу, які виявляють властивості,

підсумовуванні в табл.4, розглядаються як активні.

Таблица 4		
Властивості активних пептидів		
	Діапазон	Переважний діапазон
"Частка спіральності" в присутності ліпідів (Ri=30) (незаблокований 22- амінокислотний пептид)	≥60%	≥80%
"Частка спіральності" в присутності ліпідів (Ri=30) (незаблокований 18- амінокислотний пептид)	≥40%	≥60%
"Частка спіральності" в присутності ліпідів (Ri=30) (заблокований 18-амінокислотний пептид і більш короткі пептиди)	≥60%	≥80%
Зв'язування ліпідів (в присутності SUV)	0,5-10мкМ пептида (Ri=1-50)	
Активация ферменту LCAT	>38%	≥80%

Ri - молярне відношення "ліпід/пептид".

Як ілюструється в робочих прикладах даної заявки, базові пептиди, які виявляють високу міру активації LCAT (≥38%), звичайно виявляють наявність істотної міри А-спіральності в присутності невеликих одношарових жирових пухирців (SUV) (≥60% спіральності у випадку з незаблокованими пептидами, що складаються з 22 або більшого числа амінокислотних залишків і заблокованих пептидів, що складаються з 18 або меншого числа амінокислотних залишків; ≥40% спіральності у випадку незаблокованих пептидів, що складаються з 18 або меншого числа амінокислот), в той час як пептиди, що виявляють низьку активність в активації LCAT або позбавлені її зовсім, характеризуються слабою А-спіральністю. Однак, в деяких випадках пептиди, що характеризуються високою інтенсивністю утворення спіралі в присутності ліпідів, не були ефективні в активації LCAT.

Схожим чином, при тому, що пептиди, які забезпечують істотну активацію LCAT, звичайно зв'язують ліпіди, в деяких варіантах пептиди, що проявляють скріплення ліпідів, не зумовлюють скільки-небудь істотної активації LCAT.

Як наслідок, для фахівців в даній області техніки повинно бути зрозуміло, що, при тому, що здатність базових пептидів, описаних в даному тексті, утворювати а-спіралі (в присутності ліпідів) і зв'язувати ліпіди є критичною для їх активності, в багатьох варіантах ці властивості можуть не бути вираженими. Отже, в переважному варіанті базові пептиди по даному винаходу є об'єктами серії тестів, націлених на вибір базових пептидів, що виявляють виразну фармакологічну активність.

На першому етапі базовий пептид тестують по його здатності утворювати А-спіраль в присутності ліпідів з використанням КД-тесту, описаного тут в розділі 7. Ті пептиди, які характеризуються принаймні 40%-ою "спіральністю" (для незаблокованих пептидів, що складаються з 18 або меншого числа амінокислот) або 60%-ою спіральністю (для заблокованих пептидів, що складаються з 18 або меншого числа амінокислот, а також для незаблокованих пептидів, що складаються з 22 або більшого числа амінокислот) в присутності ліпідів (в концентрації приблизно 5мкМ і молярному відношенні "ліпід/пептид" приблизно 30), потім тестують по їх здатності зв'язувати ліпіди з використанням тесту на флуоресценцію, описаного тут в розділі 7. Зрозуміло, що тільки ті пептиди, які включають флуоресцуючі залишки триптофана (W) або нафтилаланіна (Nal), тестують на скріплення ліпідів в тесті на флуоресценцію. Однак, у випадку пептидів, які не включають флуоресцуючих амінокислотних залишків, скріплення ліпідів оцінюється по збільшенню спіральності в присутності ліпідів.

Базові пептиди, які виявляють скріплення ліпідів в присутності SUV (0,5-10мкМ пептиди; молярне відношення "ліпід/пептид" в діапазоні від 1 до 50), потім піддають скринінгу на фармакологічну активність. Зрозуміло, що фармакологічна активність, на яку проводиться скринінг, буде залежати від передбачуваного використання конкретних агоністів АроА-I. У переважному варіанті базові пептиди тестують по їх здатності активувати фермент LCAT, тому що пептиди, здатні активувати LCAT, є конкретно застосовними в способах, що описуються даним текстом. Базові пептиди, які виявляють принаймні 38%-у активацію LCAT в порівнянні з нативним АроА-I людини (відповідно до оцінки в тесті на активацію LCAT, описаним тут в розділі 8), є переважними, при тому, що найбільш переважними є базові пептиди, що виявляють активацію на рівні 50%, 60%, 70%, 80% або навіть 90%.

5.1.2. Переважні варіанти

Агоністи АроА-I по даному винаходу можуть бути далі визначені шляхом обумовлювання переважних варіантів.

В одному з переважних варіантів агоністи АроА-I складаються з 22 амінокислотних залишків відповідно до формули (I) або є їх ацильованими по Текінцю і (або) амідованими по С-кінцю, або етерифікованими формами.

В іншому переважному варіанті агоністи АроА-I є 22-амінокислотними пептидами відповідно до формули (I) або їх N-ацетильованими і (або) С-амідованими, або етерифікованими формами, в яких Х₇ є основною амінокислотою, аспарагіном (N) або глутаміновою кислотою (E); Х₈ є кислотою амінокислотою або аргініном (R); Х₁₂ є кислотою амінокислотою або аспарагіном (N); і (або) Х₁₅ є кислотою амінокислотою, глутаміном (Q) або лізином (K); і Х₁ Х₂, Х₃, Х₄, Х₅, Х₆, Х₉, Х₁₀, Х₁₁, Х₁₃, Х₁₄, Х₁₆, Х₁₇, Х₁₈, Х₁₉, Х₂₀ і Х₂₁ відповідають попереднім визначенням, даним для формули (I).

В іншому переважному варіанті агоністи АроА-I є 22-амінокислотними пептидами, відповідними формулі (I), або їх N-ацильованими і (або) С-амідованими, або етерифікованими формами, в яких:

Х₁ представлений проліном (P), гліцином (G), аланіном (A), глутаміном (Q), аспарагіном (N), аспарагіновою

кислотою (D) або D-проліном (p);

X₂ представлений аланіном (A), валіном (V) або лейцином (L);

X₄ представлений аспарагіною кислотою (D) або глутаміною кислотою (E);

5 X₇ представлений лізином (K), аргініном (R), орнітином, аспарагіном (N) або глутаміною кислотою (E);

X₁₁ представлений аспарагіном (N), глутаміном (Q), глутаміною кислотою (E) або аргініном (R);

X₁₂ представлений аспарагіною кислотою (D), глутаміною кислотою (E) або аспарагіном (N);

X₁₃ представлений лейцином (L), гліцином (G) або A-аміноізобутировою кислотою (Aib);

X₁₅ представлений аспарагіною кислотою (D), глутаміною кислотою (E), глутаміном (Q) або лізином (K);

10 X₁₆ представлений аланіном (A), триптофаном (W), гліцином (G), лейцином (L), фенілаланіном (F) або нафтилаланіном (Nal);

X₁₇ представлений лейцином (L), гліцином (G) або нафтилаланіном (Nal);

X₁₈ представлений лізином (K), орнітином, глутаміном (Q) або аспарагіном (N);

X₁₉ представлений лізином (K), орнітином, глутаміном (Q) або аспарагіном (N);

15 X₂₀ представлений лізином (K) або орнітином;

X₂₁ представлений лейцином (L); i (або)

X₂₂ представлений лізином (K) або орнітином, а X₃, X₅, X₆, X₉, X₁₀ і X₁₄ відповідають попереднім визначенням для формули (I).

Ще більш переважним варіантом відповідно до даного аспекту даного винаходу є ті пептиди, в яких:

20 X₂ представлений валіном (V);

X₃ представлений лейцином (L);

X₅ представлений лейцином (L);

X₆ представлений фенілаланіном (F);

X₇ представлений аргініном (R) або лізином (K);

25 X₈ представлений глутаміною кислотою (E);

X₉ представлений лейцином (L);

X₁₀ представлений лейцином (L);

X₁₁ представлений аспарагіном (N) або глутаміною кислотою (Q);

X₁₂ представлений глутаміною кислотою (E); i (або)

30 X₁₅ представлений глутаміною кислотою (E);

i X₁, X₄, X₁₃, X₁₄, X₁₆, X₁₇, X₁₈, X₁₉, X₂₀, X₂₁ і X₂₂ відповідають попереднім визначенням, даним для формули (I), або відповідають визначенням попереднього абзацу.

Ще в одному переважному варіанті агоністами AроА-I є 22-амінокислотні пептиди, відповідні формулі (I), або їх ацильовані по N-кінцю i (або) амідовані по C-кінцю, або етерифіковані форми, в яких тільки один із залишків X₁₈ і X₁₉ є основною амінокислотою, а інший мономер з X₁₈ і X₁₉ є глутаміном (Q) або аспарагіном (N).

35 Ще в одному варіанті агоністи AроА-I є пептидами формули (I) або їх ацильованими по N-кінцю i (або) амідованими по C-кінцю, або етерифікованими формами, в яких один з X₁₈ або X₁₉ представлений лізином (K) або орнітином, а інший мономер з X₁₈ і X₁₉ є глутаміном (Q) або аспарагіном (N).

Ще в одному переважному варіанті агоністами AроА-I є 22-амінокислотні пептиди, відповідні формулі (I), або їх ацильовані по N-кінцю i (або) амідовані по C-кінцю, або етерифіковані форми, в яких один з X₉, X₁₀, X₁₃, X₁₄, X₁₆ або X₁₇ представлений гліцином (G), а інші амінокислоти з цього переліку не є гліцином (G).

40 Ще в одному переважному варіанті агоністами AроА-I є 22-амінокислотні пептиди, відповідні формулі (I), або їх ацильовані по N-кінцю i (або) амідовані по C-кінцю, або етерифіковані форми, в яких X₁₃ є гліцином (G), а кожний з X₉, X₁₀, X₁₄, X₁₆ і X₁₇ не є гліцином (G).

45 Ще в одному переважному варіанті агоністами AроА-I є 22-амінокислотні пептиди, відповідні формулі (I), або їх ацильовані по N-кінцю i (або) амідовані по C-кінцю, або етерифіковані форми, в яких:

X₁ представлений проліном (P), гліцином (G) або D-проліном (P);

X₂ представлений валіном (V); X₃ представлений лейцином (L);

X₄ представлений аспарагіною кислотою (D) або глутаміною кислотою (E);

50 X₆ представлений фенілаланіном (F);

X₇ представлений аргініном (R);

X₈ представлений глутаміною кислотою (E);

X₉ представлений лейцином (L);

X₁₀ представлений лейцином (L) або триптофаном (W);

55 X₁₁ представлений аспарагіном (N);

X₁₂ представлений глутаміною кислотою (E);

X₁₃ представлений гліцином (G);

X₁₄ представлений лейцином (L);

X₁₅ представлений глутаміною кислотою (E);

60 X₁₆ представлений аланіном (A) або триптофаном (W);

X₁₇ представлений лейцином (L) або нафтилаланіном (Nal);

X₁₈ представлений лізином (K) або орнітином;

X₁₉ представлений глутаміном (Q);

X₂₀ представлений лізином (K) або орнітином;

65 X₂₁ представлений лейцином (L); i

X₂₂ представлений лізином (K) або орнітином.

Конкретні переважні агоністи АроА-I відповідно до даного аспекту даного винаходу вибирають з групи, що включає наступне:

- 5 пептид 3 PVLDLFRELLNEGLEALKQK (SEQ ID NO 3);
пептид 13 GVLDLFRELLNEGLEALKQK (SEQ ID NO 13);
пептид 19 PVLDLFRELLNEGLEALKQK (SEQ ID NO 19);
пептид 137 PVLDLFRELLNEGLEAZKQK (SEQ ID NO 137);
пептид 138 PVLDLFRELLNEGLEWLKQK (SEQ ID NO 138);
10 пептид 139 PVLDLFRELWNEGLEALKQK (SEQ ID NO 139);
пептид 140 PVLDLFRELLNEGLEALQOQ (SEQ ID NO 140);
пептид 141 PVLDFFRELLNEGLEALKQK (SEQ ID NO 141);
пептид 142 PVLELFRELLNEGLEALKQK (SEQ ID NO 142);

15 а також їх амідовані по С-кінцю або етерифіковані, або ацильовані по N-кінцю варіанти.

Ще в одному переважному варіанті агоністами АроА-I є 22-амінокислотні пептиди, відповідні формулі (I), або їх ацильовані по N-кінцю і (або) амідовані по С-кінцю, або етерифіковані форми, в яких X_9 представлений гліцином (G), а кожний з X_{10} , X_{13} , X_{14} , X_{16} і X_{17} гліцином (G) не є. Конкретним переважним агоністом АроА-I відповідно до даного аспекту даного винаходу є пептид 20: PVLDLFREGLNELLEALKQK (SEQ ID NO 20).

20 Ще в одному переважному варіанті агоністами АроА-I є 22-амінокислотні пептиди, відповідні формулі (I), або їх ацильовані по N-кінцю і (або) амідовані по С-кінцю, або етерифіковані форми, в яких X_{10} представлений гліцином (G), а кожний з X_9 , X_{13} , X_{14} , X_{16} і X_{17} гліцином (G) не є. Конкретним переважним агоністом АроА-I відповідно до даного аспекту даного винаходу є пептид 9: PVLDLFRELGNELLEALKQK (SEQ ID NO 9).

25 Ще в одному переважному варіанті агоністами АроА-I є 22-амінокислотні пептиди, відповідні формулі (I), або їх ацильовані по N-кінцю і (або) амідовані по С-кінцю, або етерифіковані форми, в яких X_{14} представлений гліцином (G), а кожний з X_9 , X_{10} , X_{13} , X_{16} і X_{17} гліцином (G) не є. Конкретним переважним агоністом АроА-I відповідно до даного аспекту даного винаходу є пептид 126: PVLDLFRELLNELGEALKQK (SEQ ID NO 126).

30 Ще в одному переважному варіанті агоністами АроА-I є 22-амінокислотні пептиди, відповідні формулі (I), або їх ацильовані по N-кінцю і (або) амідовані по С-кінцю, або етерифіковані форми, в яких X_{16} представлений гліцином (G), а кожний з X_9 , X_{10} , X_{13} , X_{14} і X_{17} гліцином (G) не є. Конкретним переважним агоністом АроА-I відповідно до даного аспекту даного винаходу є пептид 22: PVLDLFRELLNELLEGLKQK (SEQ ID NO 22).

35 Ще в одному переважному варіанті агоністами АроА-I є 22-амінокислотні пептиди, відповідні формулі (I), або їх ацильовані по N-кінцю і (або) амідовані по С-кінцю, або етерифіковані форми, в яких X_{17} представлений гліцином (G), а кожний з X_9 , X_{10} , X_{13} , X_{14} і X_{16} гліцином (G) не є. Конкретним переважним агоністом АроА-I відповідно до даного аспекту даного винаходу є пептид 12: PVLDLFRELLNELLEAGKQK (SEQ ID NO 12).

40 Варіанти, що включають внутрішні залишки гліцина, можуть бути легко синтезовані з високим виходом шляхом сегментної конденсації, тим самим забезпечуючи істотні переваги для крупномасштабного виробництва. Технологія "сегментної конденсації", тобто сполучення один з одним невеликих пептидних ланцюжків з утворенням більш великого ланцюжка, була застосована для отримання різноманітних біологічно активних пептидів, включаючи 44-амінокислотний міметик АроА-I (див., наприклад, Nakagawa et al., 1985, J.Amer. Chem. Soc., 107, 7087-7083; Nokihara et al., 1989, Peptides, 1988, 166-168; Kneib-Cordonnier et al., 1990, Intern. J.Peptide Protein Res., 35, 527-538), і вважається найбільш економічним методом масового високопродуктивного синтезу базових пептидів по даному винаходу.

45 Переваги синтезу за допомогою сегментної конденсації включають можливість поєднувати заздалегідь підготовлені сегменти в розчині і простоту очищення кінцевого продукту. Обмеженнями даного методу є низькі ефективність реакції поєднання і вихід на етапі конденсації, а також низька розчинність деяких поліпептидних послідовностей, що отримуються.

50 Ефективність поєднання на етапі конденсації може бути в істотній мірі підвищена шляхом збільшення часу поєднання. Звичайно підвищення тривалості поєднання приводить до підвищення рацемізації кінцевого продукту (Sieber et al., 1970, Helv. Chem. Acta, 53/ 2135-2150). Однак, оскільки в молекулі гліцину центр обертання відсутній, то він і не зазнає рацемізації (пролін через наявність стеричних перешкод також при подовженому часі поєднання зазнає рацемізації в слабій мірі або не зазнає її зовсім). Отже, варіанти з наявністю у внутрішніх положеннях залишків гліцину можуть бути синтезовані в значній кількості з високим виходом за допомогою сегментної конденсації заздалегідь синтезованих сегментів з урахуванням переваги, що дається відсутністю рацемізації у гліцину. Отже, варіанти, що мають всередині залишки гліцину, забезпечують значні переваги з точки зору здійснення широкомасштабного синтезу.

55 Ще в одному переважному варіанті агоністи АроА-I є 22-амінокислотними пептидами, відповідними формулі (I), або їх ацильованими по N-кінцю і (або) амідованими по С-кінцю, або етерифікованими формами, в яких кожний з X_9 , X_{10} , X_{13} , X_{14} , X_{16} і X_{17} не є гліцином (G).

60 Ще в одному переважному варіанті агоністи АроА-I є 22-амінокислотними пептидами, відповідними формулі (I), або їх ацильованими по N-кінцю і (або) амідованими по С-кінцю, або етерифікованими формами, в яких;

X_1 представлений проліном (P), гліцином (G), аланіном (A) або D-проліном (p);

X_2 представлений валіном (V) або лейцином (L);

X_3 представлений лейцином (L.);

65 X_4 представлений аспарагіноюв кислотою (D) або глутаміноюв кислотою (E);

X_5 представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F);

X₆ представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F);
X₇ представлений аргініном (R) або лізином (K);
X₈ представлений глутаміною кислотою (E);
5 X₉ представлений лейцином (L);
X₁₀ представлений лейцином (L) або триптофаном (W);
X₁₁ представлений аспарагіном (N) або глутаміном (Q);
X₁₂ представлений глутаміною кислотою (E);
X₁₃ представлений лейцином (L) або α-аміноізобутировою кислотою (Aib);
10 X₁₄ представлений лейцином (L), триптофаном (W) або наф-тилаланіном (Nal);
X₁₅ представлений глутаміною кислотою (E);
X₁₆ представлений аланіном (A), лейцином (L), триптофаном (W) або нафтилаланіном (Nal);
один з X₁₈ і X₁₉ представлений глутаміном (Q), а інший з них представлений лізином (K) або орнітином;
X₂₀ представлений лізином (K) або орнітином;
15 X₂₁ представлений лейцином (L); і
X₂₂ представлений лізином (K) або орнітином.

У конкретному переважному варіанті даного винаходу X₂ представлений валіном (V), X₄ представлений аспарагіною кислотою (D), X₅ представлений лейцином (L), X₆ представлений фенілаланіном (F), X₇ представлений аргініном (R), X₁₀ представлений лейцином (L), X₁₁ представлений аспарагіном (N), X₁₃ представлений лейцином (L), X₁₄ представлений лейцином (L), X₁₅ представлений аланіном (A); X₁₇ представлений лейцином (L); X₁₈ представлений лізином (K); X₁₉ представлений глутаміном (Q); X₂₀ представлений лізином (K) і (або) X₂₂ представлений лізином (K).

Ще в одному переважному варіанті агоністами АроА-I є 22-амінокислотні пептиди, відповідні формулі (I), або їх ацильовані по N-кінцю і (або) амідовані по C-кінцю, або етерифіковані форми, в яких:

25 X₁ не є А-аміноізобутировою кислотою (Aib), валіном (V) або лейцином (L);
X₂ не є D-валіном (N);
X₅ не є лізином (K), глутаміною кислотою (E), триптофаном (W) або нафтилаланіном (Nal);
X₆ не є триптофаном (W);
X₇ не є триптофаном (W) або лейцином (L);
30 X₈ не є триптофаном (W);
X₉ не є лізином (K) або триптофаном (W);
X₁₁ не є триптофаном (W);
X₁₂ не є триптофаном (W) або лейцином (L);
X₁₃ не є глутаміною кислотою (E) або триптофаном (W);
35 X₁₅ не є триптофаном (W) і (або)
X₂₁ не є лізином (K).

Ще в одному переважному варіанті агоністи АроА-I по даному винаходу вибирають з групи пептидів, які перераховані нижче:

пептид 1 PVLDLFRELLNELLEZLKQKLK (SEQ ID NO 1);
пептид 2 GVLDLFRELLNELLEALKQKLKK (SEQ ID NO 2);
пептид 3 PVLDLFRELLNELLEWLKQKLK (SEQ ID NO 3);
пептид 4 PVLDLFRELLNELLEALKQKLK (SEQ ID NO 4);
пептид 5 pVLDLFRELLNELLEALKQKLKK (SEQ ID NO 5);
45 пептид 6 PVLDLFRELLNEXLEALKQKLK (SEQ ID NO 6);
пептид 7 PVLDLFKELLNELLEALKQKLK (SEQ ID NO 7);
пептид 8 PVLDLFRELLNEGLEALKQKLK (SEQ ID NO 8);
пептид 9 PVLDLFRELGNELLEALKQKLK (SEQ ID NO 9);
пептид 10 PVLDLFRELLNELLEAZKQKLK (SEQ ID NO 10);
50 пептид 11 PVLDLFKELLQELLEALKQKLK (SEQ ID NO 11);
пептид 12 PVLDLFRELLNELLEAGKQKLK (SEQ ID NO 12);
пептид 13 GVLDLFRELLNEGLEALKQKLK (SEQ ID NO 13);
пептид 14 PVLDLFRELLNELLEALOQOLO (SEQ ID NO 14);
пептид 15 PVLDLFRELWNELLEALKQKLK (SEQ ID NO 15);
55 пептид 16 PVLDLLRELLNELLEALKQKLK (SEQ ID NO 16);
пептид 17 PVLELFKELLQELLEALKQKLK (SEQ ID NO 17);
пептид 18 GVLDLFRELLNELLEALKQKLK (SEQ ID NO 18);
пептид 19 PVLDLFRELLNEGLEALKQKLK (SEQ ID NO 19);
пептид 20 PVLDLFREGLNELLEALKQKLK (SEQ ID NO 20);
60 пептид 21 pVLDLFRELLNELLEALKQKLK (SEQ ID NO 21);
пептид 22 PVLDLFRELLNELLEGLKQKLK (SEQ ID NO 22);
пептид 23 PLLELFKELLQELLEALKQKLK (SEQ ID NO 23);
пептид 24 PVLDLFRELLNELLEALKQKLK (SEQ ID NO 24);
пептид 25 PVLDFFRELLNEXLEALKQKLK (SEQ ID NO 25);
65 пептид 26 PVLDLFRELLNELLELLKQKLK (SEQ ID NO 26);

пептид 27 PVLDLFRELLNELZEALKQKLIK (SEQ ID NO 27);
 пептид 28 PVLDLFRELLNELWEALKQKLIK (SEQ ID NO 28);
 пептид 29 AVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 29);
 пептид 123 QVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 123);
 пептид 124 PVLDLFOELLNELLEALOQOLO (SEQ ID NO 124);
 пептид 125 NVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 125);
 пептид 126 PVLDLFRELLNELGEALKQKLIK (SEQ ID NO 126);
 пептид 127 PVLDLFRELLNELLELLKQKLIK (SEQ ID NO 127);
 пептид 128 PVLDLFRELLNELLEFLKQKLIK (SEQ ID NO 128);
 пептид 129 PVLELFNDLLRELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 129);
 пептид 130 PVLELFNDLLRELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 130);
 пептид 131 PVLELFKELLNELLDALRQKLIK (SEQ ID NO 131);
 пептид 132 PVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 132);
 пептид 133 PVLELFERLLEDLLQALNKKLIK (SEQ ID NO 133);
 пептид 134 PVLELFERLLEDLLKALNQKLIK (SEQ ID NO 134);
 пептид 135 DVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 135);
 пептид 136 PALELFKDLLQELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 136);
 пептид 137 PVLDLFRELLNEGLEAZKQKLIK (SEQ ID NO 137);
 пептид 138 PVLDLFRELLNEGLEWLKQKLIK (SEQ ID NO 138);
 пептид 139 PVLDLFRELWNEGLEALKQKLIK (SEQ ID NO 139);
 пептид 140 PVLDLFRELLNEGLEALOQOLO (SEQ ID NO 140);
 пептид 141 PVLDFFRELLNEGLEALKQKLIK (SEQ ID NO 141);
 пептид 142 PVLELFRELLNEGLEALKQKLIK (SEQ ID NO 142);

і їх ацильовані по N-кінцю (зокрема, ацетильовані або дансильовані) і (або) амідовані по C-кінцю, або етерифіковані форми, де X означає а-аміноізобутировую кислоту (Aib), Z означає нафтилаланін (Nal) і O означає орнитин.

В іншому переважному варіанті агоністи АроА-I по даному винаходу вибирають з групи пептидів, які перераховані нижче:

пептид 1 PVLDLFRELLNELLEZLKQKLIK (SEQ ID NO 1);
 пептид 2 GVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 2);
 пептид 3 PVLDLFRELLNELLEWLKQKLIK (SEQ ID NO 3);
 пептид 4 PVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 4);
 пептид 5 pVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 5);
 пептид 6 PVLDLFRELLNEXLEALKQKLIK (SEQ ID NO 6);
 пептид 7 PVLDLFKELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 7);
 пептид 8 PVLDLFRELLNEGLEALKQKLIK (SEQ ID NO 8);
 пептид 9 PVLDLFRELGNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 9);
 пептид 10 PVLDLFRELLNELLEAZKQKLIK (SEQ ID NO 10);
 пептид 11 PVLDLFKELLQELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 11);
 пептид 12 PVLDLFRELLNELLEAGKQKLIK (SEQ ID NO 12);
 пептид 13 GVLDLFRELLNEGLEALKQKLIK (SEQ ID NO 13);
 пептид 14 PVLDLFRELLNELLEALOQOLO (SEQ ID NO 14);
 пептид 15 PVLDLFRELWNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 15);
 пептид 16 PVLDLLRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 16);
 пептид 17 PVLELFKELLQELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 17);
 пептид 18 GVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 18);
 пептид 19 PVLDLFRELLNEGLEALKQKLIK (SEQ ID NO 19);
 пептид 20 PVLDLFREGLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 20);
 пептид 21 PVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 21);
 пептид 22 PVLDLFRELLNELLEGLKQKLIK (SEQ ID NO 22);
 пептид 23 PLLELFKELLQELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 23);
 пептид 24 PVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 24);
 пептид 25 PVLDFFRELLNEXLEALKQKLIK (SEQ ID NO 25);
 пептид 26 PVLDLFRELLNELLELLKQKLIK (SEQ ID NO 26);
 пептид 27 PVLDLFRELLNELZEALKQKLIK (SEQ ID NO 27);
 пептид 28 PVLDLFRELLNELWEALKQKLIK (SEQ ID NO 28);
 пептид 29 AVLDLFRELLNELLEALKQKLIK (SEQ ID NO 29);

і їх ацильовані по N-кінцю (зокрема, ацетильовані або дансильовані) і (або) амідовані по C-кінцю, або етерифіковані форми, де X означає А-аміноізобутирову кислоту (Aib), Z означає нафтилаланін (Nal) і О означає орнитин.

Ще в одному переважному варіанті агоністи АроА-I є мультимерними формами, відповідними формулам II, III

і (або) IV, в яких НН представлений пептидом формули (I) або його ацетильованою по N-кінцю і (або) амідованою по C-кінцю, або етерифікованою формою, або будь-яким з переважних пептидів формули (I), описаним в даному тексті.

Ще в одному переважному варіанті базові пептиди, що складають агоністи АроА-I, не є будь-яким з перерахованих нижче пептидів:

пептид 75 PVLDEFREKLNEELEALKQKLK (SEQ ID NO 75);
пептид 94 PVLDEFREKLNEALEALKQKLK (SEQ ID NO 94);
пептид 109 PVLDEFREKLNERLEALKQKLK (SEQ ID NO 109);
пептид 237 LDDLLQKWAEAFNQLLKK (SEQ ID NO 237);
пептид 238 EWLKAFYEKVKLEKLELF* (SEQ ID NO 238);
пептид 241 DWFKAFYDKVFEKFKEFF (SEQ ID NO 241);
пептид 242 GIKFLGSIWKFIFAVG (SEQ ID NO 242);
пептид 243 DWFKAFYDKVAEKFKEAF (SEQ ID NO 243);
пептид 244 DWLKAIFYDKVAEKLKEAF (SEQ ID NO 244);
пептид 245 DWLKAIFYDKVFEKFKEFF (SEQ ID NO 245);
пептид 246 EWLEAFYKKVLEKLELF (SEQ ID NO 246);
пептид 247 DWFKAFYDKFFEKFKEFF (SEQ ID NO 247);
пептид 248 EWLKAFYEKVKLEKLELF (SEQ ID NO 248);
пептид 249 EWLKAIEYKVEEKLKELF* (SEQ ID NO 249);
пептид 250 EWLKAIEYKVKLEKLELF* (SEQ ID NO 250);
пептид 251 EWLKAIFYKKVLEKLELF* (SEQ ID NO 251).

Нарешті, в переважному варіанті агоністи АроА-I не є будь-яким з пептидів, перерахованих в табл.10 (розділ 8.3 даного тексту), що виявляють ефективність активації ферменту LCAT на рівні, меншим 38% в порівнянні з нативним АроА-I людини.

5.2. Синтез і очищення пептидних агоністів АроА-I

Базові пептиди по даному винаходу можуть бути отримані з використанням по суті будь-якої з методик, відомих в даній області техніки, націлених на отримання пептидів. Наприклад, пептиди можуть бути отримані з використанням стандартного покрокового синтезу пептидів в розчині або в твердій фазі, або із застосуванням методик рекомбінантної ДНК.

5.2.1. Хімічний синтез

Базові пептиди можуть бути отримані з використанням стандартної процедури покрокового синтезу в розчині або в твердій фазі (див., наприклад, "Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins", eds. Williams et al., 1997, CRC Press, Boca Raton, FL і цитовані там роботи; Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach", eds. Atherton & Sheppard, 1989, IRL Press, Oxford і цитовані там роботи).

З іншого боку, пептиди по даному винаходу можуть бути отримані шляхом сегментної конденсації відповідно до описаного, наприклад, у Liu et al., 1996, Tetrahedron Lett, 37, 933-936; Baca et al., 1995, J.Amer. Chem. Soc, 117, 1881-1887; Tarn et al., 1995, Intern. J.Peptide Protein Res., 45, 209-216; Schnolzer & Kent, 1992, Science., 256, 221-225; Liu & Tarn, 1994, J.Amer. Chem. Soc, 116, 4149-4153; Liu & Tarn., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 6584-6588; Yamashiro & Li, 1988, Intern. J.Peptide Protein Res., 31, 322-334). Зокрема, це стосується випадків, коли пептиди включають залишок гліцину. Інші методи, що застосовуються для синтезу пептидів по даному винаходу, описані у Nakagawa et al., 1985, J.Amer. Chem. Soc, 107, 7087-7092.

Агоністи АроА-I, що включають N- і (або) C-кінцеві блокуючі групи, можуть бути отримані з використанням стандартних методик органічної хімії. Наприклад, методи ацилювання по N-кінцю пептиду або амідкування або етерифікування по C-кінцю пептиду добре відомі в даній області техніки. Шляхи внесення інших модифікацій по N- і (або) C-кінцю будуть ясні фахівцям в даній області техніки, як шляхи захисту будь-якої функціональної групи в складі бічних ланцюгів, схожі з необхідністю приєднання кінцевих блокуючих груп.

Фармацевтично прийнятні солі (противоіони) можуть бути стандартним чином отримані з допомогою іон-обмінної хроматографії або за допомогою інших методів, добре відомих в даній області техніки.

Сполуки по даному винаходу, що знаходяться у вигляді тандемно вштованих мультимерів, можуть бути синтезовані стандартним чином шляхом додання лінкера (лінкерів) до пептидного ланцюжка на відповідному етапі синтезу. З іншого боку, можуть бути синтезовані спіральні сегменти з реагуванням кожного з таких сегментів з лінкером. Зрозуміло, що конкретний метод синтезу буде залежати від складу лінкера. Відповідні схеми захисту і хімічних реакцій добре відомі і будуть ясні для фахівців в даній області техніки.

Сполуки по даному винаходу, які знаходяться у вигляді розгалужених структур, можуть бути стандартним чином синтезовані з використанням тримерних і тетрамерних полімерів і хімічних реакцій, описаних у Tarn, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA/ 85, 5409-5413 і Demoor et al., 1996, Eur. J.Biochem., 239, 74-84. Модифікування синтетичних полімерів і стратегії синтезу розгалужених структур вищих або нижчих порядків або структур, що поєднують в своєму складі спіральні сегменти різних базових пептидів, цілком доступні для фахівців в області хімії пептидів і (або) органічної хімії.

Утворення дисульфідних зв'язків, якщо це є бажаним, звичайно здійснюють в присутності несильних окислювачів. Можуть бути використані хімічні окислювачі або ж сполуки можуть просто бути піддані впливу атмосферного кисню з метою досягнення утворення таких зв'язків. Пізні методи в даній області техніки відомі, включаючи ті, які описані у Tarn et al., 1979, Syntghesis, 955-957; Stewart et al., 1984, "Solid Phase

Peptide Synthesis" 2el ed.. Pierce Chem. Co., Rockford, IL; Ahmed et al., 1975, J.Biol. Chem., 250, 8477-8482; Pennington et al., 1991, Peptides, 1990, 164-166, eds. Giralt & Andreu, ESCOM Leiden, Нідерланди. Інші підходи описані у Kamber et al., 1980, Helv. Chim. Acta, 63, 899-915. Спосіб, здійснюваний на твердих підкладках, описаний у Albericio, 1985, Intern. J.Peptide Protein Res., 26, 92-97. Будь-який з цих методів може бути використаний для утворення дисульфідних зв'язків в пептидах по даному винаходу.

5.2.2. Рекombінантний синтез

Якщо конкретний пептид складається виключно з амінокислот, що генетично кодуються або таким чином складена його частина, то такий пептид або його відповідний фрагмент можуть бути синтезовані з використанням рекombінантних методологій, традиційних для генетичної інженерії.

Для рекombінантного синтезу полінуклеотидну послідовність, що кодує конкретний пептид, вносять у відповідну експресуючу систему, тобто у вектор, в складі якого є елементи, необхідні для здійснення транскрипції і трансляції вбудованої кодуючої послідовності, або ж, в випадку з вектором на основі вірусу, що містить РНК, є елементи, необхідні для здійснення реплікації і трансляції. Потім експресуючу систему вносять у відповідну клітину-мішень, яка буде експресувати даний пептид. У залежності від вибраної експресуючої системи пептид, що експресується потім виділяють із застосуванням добре відомих в даній області техніки процедур. Методи отримання рекombінантних білків і пептидів добре відомі (див., наприклад, Sambrook et al., 1989, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Lab., NY; Ausubel et al., 1989, "Current Protocols in Molecular Biology", Greene Publ. Assoc. & Wiley Intersci., NY - обидва керівництва включені в повному своєму обсязі для довідки у вигляді бібліографічних посилань).

Для підвищення ефективності отримання полінуклеотид може бути сконструйований таким чином, щоб кодувати множинні одиниці одного і того ж пептиду, розділені сайтами-мішенями для каталітичного розщеплення - за допомогою такого підходу можуть бути сконструйовані або гомополімери (пептидні одиниці, що повторюються), або гетерополімери (сполучені разом різні пептиди). Отриманий в результаті поліпептид може бути розщеплений (наприклад, шляхом обробки відповідним ферментом) з метою виділення пептидних одиниць. У переважному варіанті поліцистронний полінуклеотид може бути сконструйований так, щоб транскрибувалась єдина мРНК, яка кодує множинні пептиди (тобто гомополімери або гетерополімери), при тому, що кожна кодуюча ділянка функціонально сполучена з кеп-незалежною послідовністю контролю трансляції: наприклад, внутрішнього сайту входу в рибосому (IRES). У разі використання відповідної вірусної експресуючої системи трансляція кожного пептиду, що кодується конкретної мРНК, контролюється внутрішніми чинниками транскрипта - наприклад, елементом IRES. Отже, поліцистронна конструкція контролює транскрипцію єдиної великої поліцистронної мРНК, яка, в свою чергу, забезпечує трансляцію безлічі окремих пептидів. Такий підхід дозволяє виключити етапи отримання і каталітичного розщеплення поліпротеїнів і може в істотній мірі підвищувати вихід пептиду з використанням єдиного промотора.

Для експресії описаних в даній заявці пептидів можуть бути використані різні системи "хазяїн-експресуючий вектор". Вони включають, тим самим не вичерпуючись, мікроорганізми, такі як бактерії, що трансформуються рекombінантною фаговою ДНК або плазмідною ДНК експресуючих векторів, що включають відповідну кодуючу послідовність; дріжджі або нитчаті гриби, що трансформуються рекombінантними дріжджовими або грибовими експресуючими векторами, що включають відповідну кодуючу послідовність; клітини комах, що інфікуються рекombінантними вірусними експресуючими векторами (наприклад, бакуловірусними), що включають відповідну кодуючу послідовність; клітини рослин, що інфікуються рекombінантними вірусними експресуючими векторами (наприклад, вірусом мозаїки цвітної капусти або вірусом тютюнової мозаїки) або рекombінантними плазмідними експресуючими векторами що трансформуються (наприклад, Ті-плазмідой), що включають відповідну кодуючу послідовність; або клітини тварин.

Пов'язані із забезпеченням експресії елементи в складі експресуючих систем варіюються по своїй силі і специфічності. В залежності від системи "вектор-хазяїн", що використовується, будь-які з відповідних регуляторів транскрипції і трансляції, включаючи конститутивні і індукційні промотори, можуть бути використані для включення в склад експресуючого вектора. Наприклад, у випадку клонування в бактерійну систему, можуть бути використані індукційні промотори, такі як промотор рL бактеріофага λ , промотори рlac, рtrp, рtac (химерний промотор рtrp-lac) кишкової палички і подібні; у випадку клонування в системи клітин комах можуть бути використані такі промотори, як промотор поліедрозного бакуловіруса; у випадку клонування в системи рослинних клітин можуть бути використані промотори, похідні від геномів клітин рослин (наприклад, промотори генів теплового шоку, промотор гена малої субодиниці фотосинтетичного ферменту Rubisco, промотор гена зв'язуючого білка хлорофілу-a/b) або похідні від рослинних вірусів (наприклад, промотор 35S-РНК вірусу CaMV, промотор гена капсидного білка вірусу TMV); у випадку хілування в системи клітин ссавців можуть бути використані промотори, похідні від генома клітин ссавців (наприклад, промотор гена металотіонеїна) або від вірусів ссавців (наприклад, промотор пізнього гена аденовірусу або промотор гена 7,5K вірусу коров'ячої віспи); у разі створення клітинних ліній, які б несли множинні копії продукту, що експресується, можуть бути використані вектори на базі вірусів SV40, BPV і EBV, що включають відповідний селективний маркер.

У разі використання рослинних експресуючих векторів експресія послідовностей, що кодують пептиди по даному винаходу, може бути поставлена під контроль будь-якого з широкого кола промоторів. Наприклад, можуть бути використані вірусні промотори, такі як промотори 35S-РНК і 19S-РНК вірусу мозаїки цвітної капусти (CaMV) (Brisson et al., 1984, Nature, 310, 511-514) або промотор гена капсидного білка вірусу TMV (Takamatsu et al., 1987, EMBO J. 6, 307-311); з іншого боку, можуть бути використані і "власні" рослинні промотори, такі як промотор гена малої субодиниці Rubisco (Coruzzi et al., 1984, EMBO J., 3, 1671-1680; Broglie et al., 1984, Science, 224, 838-843) або промотори генів теплового шоку, наприклад, генів hsp17,5-E або hsp17,3-B сої

(Gurley et al., 1986, Mol. Cell. Biol., 6, 559-565). Такі конструкції можуть бути внесені в рослинні клітини з використанням Ti-плазмид, Ri-плазмид, векторів на основі рослинних вірусів, прямої ДНК-трансформації, мікроін'єкцій, електропорації і т.п. Для ознайомлення з оглядами таких методів див., наприклад, Weissbach & Weissbach, 1988, "Methods for Plant Molecular Biology", Acad. Press, NY, Sect. VIII, pp.421-463; Grierson & Corey, 1988, "Plant Molecular Biology", 2nd ed., Blackie, London, Ch.7-9.

Одна з експресуючих систем в клітках комах, призначених для вироблення пептидів по даному винаходу, може бути система клітин *Autographa californica*, в яких для експресії чужорідного гена використовується вірус поліедро́за (поліедро́за) ядер AnNPV. Цей вірус росте і в клітках совки *Spodoptera frugiperda*. Кодуюча послідовність може бути клонована в неістотну по реплікації дільницю генома вірусу (наприклад, в дільницю гена поліедріна) і вміщена під контроль промотора AcNPV (наприклад, промотор гена поліедро́за). Успішне вбудування кодуючої послідовності повинно привести до інактивації гена поліедро́за і виробленню "роздязнутого" рекомбінантного вірусу (тобто вірусу, що втратив білковий капсид, той, що кодується геном поліедро́за). Такі рекомбінантні віруси потім використовуються для зараження клітин *Spodoptera frugiperda*, в яких вбудований ген експресується (див., наприклад, Smith et al., 1983, J.Virol., 46, 584; Smith, патент США №4215051). Подальші приклади такої експресуючої системи можуть бути знайдені в керівництві "Current Protocols in Molecular Biology", Vol.2, eds. Ausubel et al., Greene Publ. Assoc. & Wiley Intersci, 1989.

При використанні систем клітин ссавців може бути використане широке коло експресуючих систем на основі вірусів. У випадках, коли в якості експресуючого вектора використовується аденовірус, кодована послідовність може бути лігвана до складу комплексу транскрипційно-трансляційного контролю аденовірусного генома -наприклад, промотору пізнього гена і 3-сегментної лідерної послідовності. Такий химерний ген може бути потім вбудований в аденовірусний геном методами рекомбінації *in vitro* або *in vivo*. Внесення в неістотну по реплікації дільницю вірусного генома (наприклад, сегмент E1 або E3) приведе в результаті до утворення рекомбінантного вірусу, який буде життєздатним і який буде експресувати пептид в інфікованому організмі-хазяїні (див., наприклад, Logan & Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 3655-3659). З іншого боку, може бути використаний промотор гена 7,5-K вірусу коров'ячої віспи (див., наприклад, Mackett et al., 1982, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 7415-7419; Mackett et al., 1984, J.Virol., 49, 857-864; Panicali et al., 1982, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 4927-4931).

Інші експресуючі системи, призначені для отримання пептидів по даному винаходу, також можуть бути очевидні для фахівців в даній області техніки.

5.2.3. Очищення пептидів

Пептиди по даному винаходу можуть бути очищені за допомогою відомих методів очищення, таких як хроматографія із зверненою фазою, ВЕРХ, іон-обмінна хроматографія, гель-електрофорез, афінна хроматографія і подібне. Конкретні умови, що використовуються при очищенні конкретних пептидів, будуть залежати, зокрема, від стратегії синтезу, що застосовується і таких чинників, як величина сумарного заряду, рівень гідрофобності, рівень гідрофільності і ін., що буде цілком очевидно для фахівців в даній області техніки. Мультимерні розгалужені пептиди можуть бути очищені, наприклад, з допомогою іон-обмінної хроматографії або гель-фільтрації.

Для очищення із застосуванням афінної хроматографії може бути використане будь-яке антитіло, яке специфічне відносно конкретного пептиду. Для отримання антитіл різні тварини-реципієнти, включаючи, але тим самим не обмежуючись, кроликів, мишей, пацюків і т.п., можуть бути імунізовані шляхом ін'єкції пептиду. Цей пептид може бути сполучений з відповідним носієм, таким як бичачий сироватковий альбумін з використанням функціональних груп в складі бічних ланцюгів або лінкер, приєднаного до функціональної групи бічного ланцюга. Можуть бути використані різні ад'юванти, які забезпечать посилення імунної відповіді, які, в залежності від вигляду реципієнта, що використовується, включають, тим самим не обмежуючись, ад'ювант Фрейнда (повний або неповний), мінеральні гелі, такі як кремнезем, поверхово-активні речовини, такий як лізолецитин, поліспирти, поліаніони, пептиди, масляні емульсії, гемоцианин слизня, динітрофенол і потенційно застосовні людські ад'юванти, такі як BCG (палички Кальметта-Жерена) і бактерії *Corynebacterium parvum*.

Моноклональні антитіла до пептиду можуть бути отримані з використанням методики, яка забезпечує вироблення молекул антитіл безперервними клітинними лініями, що культивуються. Ці методи включають, тим самим не вичерпуючись, методику гібридом, вперше описану Келером і Мільштейном (Kohler & Milstein, 1975, Nature, 256, 495-497; Kaprowski, патент США №4376110 - включений для довідки у вигляді бібліографічного посилання), методика гібридом з В-лімфоцитами людини (Kosbor et al., 1983, Immunol. Today, 4, 72; Cote et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 2026-2030) і методика гібридом з трансформацією вірусом Епштейна-Барр (EBV) (Cole et al., 1985, "Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy", A.R.Xiss Inc., pp.77-96). Крім того, можуть бути застосовані методики, розроблені для отримання химерних антитіл (Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 6851-6855; Neuberger et al., 1984, Nature, 312, 604-608; Takeda et al., 1985, Nature, 314, 452-454; Boss, патент США №4816397; Cabilly, патент США №4816567 - включені для довідки як бібліографічні посилання), в яких проводиться m(5U сплайсинг генів миші, що кодують антитіла з відповідною антигенною специфічністю, і генів людини, що кодують антитіла з конкретною біологічною активністю. Або ж можуть бути отримані "гуманізовані" антитіла (див., наприклад, Queen, патент США №5585089 - включений для довідки у вигляді бібліографічного посилання). З іншого боку, методики, описані в зв'язку з виробленням одноланцюжкових антитіл (патент США №4946778), також можуть бути адаптовані для отримання пептид-специфічних одноланцюжкових антитіл.

Фрагменти антитіл, що містять делеції сайтів специфічного скріплення, можуть бути сформовані за допомогою відомих методик. Наприклад, такі фрагменти включають, тим самим не обмежуючись, фрагменти

F(ab')₂, які можуть бути отримані шляхом розщеплення пепсіном молекул іммуноглобулінів, або фрагменти Fab, які можуть бути отримані шляхом відновлення дисульфідних "містків" у фрагментах F(ab')₂. З іншого боку, можуть бути сконструйовані Fab- експресуючі бібліотеки (Huse et al., 1989, Science, 246, 1275-1281), що забезпечить прискорення і спрощення ідентифікації моноклональних Fab-фрагментів, що мають бажану специфічність відносно пептиду, який представляє інтерес.

Антитіло або фрагмент антитіла, специфічні відносно бажаного пептида, можуть бути приєднані, наприклад, до агарози, а такий комплекс "антитіло-агароза" може бути використаний для іммунохроматографічного очищення пептидів по даному винаходу: див., наприклад. Scopes, 1984, "Protein Purification: Principles and Practice", Springer-Verlag New York Inc., NY; Livingstone, 1974, "Methods in Enzymology: Immunoaffinity Chromatography of Proteins", 34, 723-731).

5.3. Фармацевтичні композиції і способи лікування

Агоністи ApoA-I по даному винаходу можуть бути застосовані для лікування будь-якого захворювання у тварин, особливо у ссавців, включаючи людину, при яких бажаним є підвищення сироваткового рівня HDL, активація LCAT, сприяння виходу холестерину з клітин і індукція OTX. Такі стани включають, тим самим не вичерпуючись, гіперліпідемію, і особливо гіперхолестеринемію, серцево-судинні захворювання, такі як атеросклероз (включаючи лікування і профілактику атеросклерозу), рестеноз (наприклад, профілактику або лікування атеросклеротичних бляшок, що розвиваються внаслідок терапевтичних процедур, таких як пластика судин) і інші захворювання, такі як вихід ендотоксинів, який часто супроводжує септичний шок.

Агоністи ApoA-I можуть бути застосовані самі по собі або в поєднанні з іншими лікарськими засобами, що застосовуються для лікування вищеназваних станів. Такі способи лікування включають, тим самим не обмежуючись, одночасне або послідовне введення лікарських засобів, що застосовуються.

Наприклад, при лікуванні гіперхолестеринемії або атеросклерозу препарати з агоністами ApoA-I можуть бути введені нарівні з одним або декількома препаратами, що застосовуються в цей час, призначеними для зниження рівня холестерину, -наприклад, жовчнокислотними полімерами, ніацином і (або) статинами. Такий комбінований підхід може зумовлювати істотне підвищення ефективності лікування завдяки тому, що кожний з лікарських засобів діє на різну мішень в системі синтезу і транспорту холестерину: тобто жовчнокислотні полімери порушують повторне залучення холестерину, освіту хіломікрона і LDL; ніацин насамперед придушує популяції VLDL і LDL; статини придушують синтез холестерину, знижують зміст LDL (і, можливо, збільшують експресію рецепторів LDL); в той час як агоністи ApoA-I по даному винаходу придушують OTX, збільшують рівень HDL, збільшують активність LCAT і сприяють виходу холестерину з клітин.

В іншому варіанті агоністи ApoA-I можуть бути застосовані в поєднанні з фібратами для лікування гіперліпідемії, гіперхолестеринемії і (або)сердечно-судинних захворювань, таких як атеросклероз.

Ще в одному варіанті агоністи ApoA-I по даному винаходу можуть бути використані в поєднанні з протимікробними і протизапальними засобами, що звичайно використовуються для лікування септичного шоку, що індукується виходом ендогенних токсинів.

Агоністи ApoA-I по даному винаходу можуть бути включені в композицію у вигляді пептидів або у вигляді пептидно-ліпідних комплексів, які можуть бути введені пацієнтам різними способами так, щоб забезпечити попадання агоністів ApoA-I в кровотік. Нижче будуть описані приклади фармацевтичних композицій і режимів лікування.

5.3.1. Агоністи ApoA-I і пептидно-ліпідні комплекси як активні компоненти

Пептиди-агоністи ApoA-I можуть бути синтезовані або зроблені з використанням будь-якої методики, описаної в розділі 5.2. і його підрозділах. Стабільний матеріал, який може використовуватися протягом тривалого періоду часу, може бути забезпечений за рахунок ліофілізації пептидів: або з метою приготування матеріалу для нових композицій, або для приготування окремих аліквот або стандартних доз, які можуть бути відновлені регідратацією стерильною водою або відповідним стерильним буферованим розчином перед введенням пацієнту.

У деяких варіантах переважним може бути формулювання і введення агоніста ApoA-I у вигляді пептидно-ліпідного комплексу. Такий підхід має ряд переваг, оскільки такий комплекс буде характеризуватися збільшеним часом півжиття в кровотоці, зокрема, у випадку, коли такий комплекс має розмір і щільність, схожий з розміром і щільністю HDL, а особливо з параметрами фракцій HDL пре-B-1 і пре-B-2. Пептидно-ліпідні комплекси можуть бути отримані стандартними способами із застосуванням будь-якого з описаних нижче методів. Стабільний матеріал, який може використовуватися протягом тривалого періоду часу, може бути забезпечений за рахунок ліофілізації - при цьому переважним підходом є описаний нижче процес коліофілізації. Ліофілізовані пептидно-ліпідні комплекси можуть бути використані для отримання матеріалу для приготування нових фармацевтичних композицій або для приготування окремих аліквот або стандартних доз, які можуть бути відновлені регідратацією стерильною водою або відповідним стерильним буферованим розчином перед введенням пацієнту.

Для приготування пептидно-ліпідних форм або комплексів може бути застосований ряд методів, відомих фахівцям в даній області техніки. У цьому відношенні може бути використаний ряд методів приготування ліпосом або протеоліпосом. Наприклад, пептид може бути опромінений ультразвуком (з використанням випромінювачів різної конструкції) разом з відповідними ліпідами з утворенням комплексів. З іншого боку, пептид може бути поєднаний із заздалегідь сформованим ліпідним пухирцем, внаслідок чого буде відбуватися спонтанне утворення пептидно-ліпідних комплексів. Ще в одному альтернативному підході пептидно-ліпідні комплекси можуть бути сформовані за допомогою методу детергентного діаліза: наприклад, суміш пептиду, ліпіду і детергенту діалізують з метою видалення детергенту, внаслідок чого відбувається відновлення або

формування пептидно-ліпідних комплексів (див., наприклад, Jonas et al., 1986, Methods Enzymol., 128, 553-582).

При тому, що описані вище способи є здійсненними, кожний з цих підходів характеризується "власним" набором проблем, пов'язаних з вартістю, виходом, відновлювальністю і безпекою. Заявники розробили простий спосіб отримання пептидно- або білково-фосфоліпідних комплексів, які мають параметри, схожі з такими у HDL. Цей підхід може бути використаний для отримання комплексів пептиду ApoA-I і ліпиду і він характеризується наступними перевагами: (1) інгредієнти, що включаються в більший своїй частині або повністю використовуються для утворення бажаних комплексів, тим самим дозволяючи уникати втрат початкових матеріалів, що є звичайним для інших аналогічних способів. (2) Отримують ліюфілізовані сполуки, які характеризуються високим рівнем стабільності при зберіганні. Отримані в результаті комплекси можуть бути відновлені безпосередньо перед їх застосуванням. (3) Отримані в результаті комплекси звичайно не вимагають додаткового очищення після приготування композицій і перед застосуванням. (4) Токсичні сполуки, включаючи такі детергенти як холат, виключаються. Більш того спосіб приготування може легко бути промасштабований і є придатним для GMP-виробництва (тобто в середовищі, вільному від ендотоксинів).

Відповідно до переважного способу, пептид і ліпід об'єднуються в розчиннику, якому солюбілізує кожний з компонентів і може бути повністю видалений при ліюфілізації. У цьому відношенні можуть бути ретельно підібрані пари розчинників, які забезпечать одночасну розчинність амфіпатичного пептиду і ліпиду. В одному з варіантів білок (білки) або пептид (пептиди), призначені для включення в склад частки, можуть бути розчинені у водному або органічному розчиннику, або в суміші розчинників (розчинник 1). (Фосфо)ліпідний компонент розчиняють у водному або органічному розчиннику або суміші розчинників (розчинник 2), який поєднується з розчинником 1, і після цього два розчини змішують. З іншого боку, пептид і ліпід можуть бути внесені в систему для одночасного їх розчинення - наприклад, в суміш розчинників, що поєднуються. Відповідна пропорція пептиду (білка) і ліпідів спочатку визначається емпіричним шляхом таким чином, щоб комплекси, що отримуються в результаті виявляли відповідні фізичні і хімічні властивості: тобто звичайно (але необов'язково) схожість по розміру з HDL. Отриману в результаті суміш заморожують і ліюфілізують до повного висихання. Іноді до даної суміші може бути доданий додатковий розчинник, маючи на меті підвищення ефективності ліюфілізації. Отриманий ліюфілізований продукт може зберігатися протягом тривалого часу, залишаючись при цьому стабільним.

В експериментальних прикладах, описаних в даній заявці, пептид 4 (SEQ ID NO 4) і фосфоліпіди розчиняли окремо в метанолі, об'єднували і перемішували в ксилени перед ліюфілізацією. Кожний з компонентів - пептид і ліпід - може бути доданий до суміші двох розчинників. З іншого боку, розчин пептиду, розчиненого в метанолі, може бути змішаний з розчином ліпиду, розчиненого в ксилолі. Необхідна ретельність у видаленні солей з розчинників з метою недопущення висалювання пептиду. Отриманий в результаті розчин, що містить пептид і ліпід, спільно розчинені в метанолі-ксилолі, ліюфілізують з утворенням порошку.

Ліюфілізований продукт може бути відновлений з метою отримання розчину або суспензії пептидно-ліпідного комплексу. У цьому відношенні ліюфілізований порошок регідратують водним розчинником відповідного об'єму (часто 5 мг пептиду на 1 мл, що є стандартною дозою для внутрішньовенних ін'єкцій). У переважному варіанті ліюфілізований порошок регідратують фосфатно-сольовим буфером або фізіологічним розчином. Для поліпшення регідrataції суміш може бути піддана струшуванню або перемішуванню, а в багатьох випадках етап відновлення проводять при температурі, рівній або дещо перевищуючій температуру фазового переходу, характерну для ліпідного компонента даних комплексів. У результаті протягом декількох хвилин отримують чистий препарат відновлених ліпід-протеїнових комплексів.

Аліквота отриманого внаслідок відновлення препарату може бути охарактеризована для підтвердження того, що комплекси в отриманих препаратах мають бажаний діапазон розмірів: тобто він відповідає розподілу розмірів HDL. У цьому випадку може бути застосований метод гель-фільтрації. В описаних в даній заявці робочих прикладах використовувалася гель-хроматографія на колонках Superose-6 FPLC (Pharmacia). Буфер, що використовувався містив 150мМ NaCl в 50мМ фосфатного буферу - pH=7,4. Типовий об'єм зразка складає від 20 до 200 мікролітрів комплексу, що містить 5мг пептиду на 1мл. Швидкість потоку на колонці становить 0,5мл/хв. Як стандарти для калібрування колонки використовують білки відомої молекулярної маси і діаметра Стокса, а також HDL людини. Білки і ліпопротеїнові комплекси тестували по величині поглинання або розсіювання світла при довжинах хвиль 254 і 280нм.

Агоністи ApoA-I по даному винаходу можуть бути включені в комплекси з різними ліпідами, включаючи насичені, ненасичені, природні і синтетичні ліпіди і (або) фосфоліпіди. Відповідні ліпіди включають, тим самим не вичерпуючись, фосфоліпіди з невеликим алкільним ланцюжком, яєчний фосфатіділхолін, фосфатіділхолін сої, дипальмітоїл-фосфатіділхолін, димирістоїлфосфатіділхолін, дистеароїлфосфатіділхолін, 1-миристоїл-2-пальмітоїлфосфатіділхолін, 1-пальмітоїл-2-миристоїлфосфатіділхолін, 3-пальмітоїл-2-стеароїлфосфатіділхолін, 1-стеароїл-2-пальмітоїлфосфатіділхолін, диолеоїлфосфатіділхолін, диолеофосфатіділетаноламін, дилауроїлфосфатіділгліцерин, фосфатіділхолін, фосфатіділсерин, фосфатіділетаноламін, фосфатіділінозитол, сфингомєлін, сфинголіпіди, фосфатіділгліцерин, дифосфатіділгліцерин, димирістоїлфосфатіділгліцерин, дипальмітоїлфосфатіділгліцерин, дистеароїлфосфатіділгліцерин, диолеоїлфосфатіділгліцерин, димирістоїлфосфатидну кислоту, дипальмітоїлфосфатидну кислоту, димирістоїлфосфатіділетаноламін, дипальмітоїлфосфатіділетаноламін, димирістоїлфосфатіділсерин, дипальмітоїлфосфатіділсерин, фосфатіділсерин головного мозку, сфингомєлін головного мозку, дипальмітоїлсфингомєлін, дистеароїлсфингомєлін, фосфатидну кислоту, галактоцеребозид, гангліозиди, цереброзиди, дилаурилфосфатіділхолін, (1,3)-D-манозил-(1,3)-дигліцерид, амінофенілглікозид,

3-холесте-рил-6'-(глікозилтіо)гексильовий ефір, гліколіпіди, а також холестерин і його похідні.

Заявники встановили, що, коли агоністи АроА-I по даному винаходу утворюють комплекси зі сфингомієліном, то всі частки пре-В-подібної фракції HDL елімінуються. Відповідно, в переважному варіанті даного винаходу агоністи АроА-I вводять в комплекси зі сфингомієліном.

5.3.2. Способи лікування

Пептидні агоністи АроА-I або пептидно-ліпідні комплекси по даному винаходу можуть бути введені будь-яким відповідним шляхом так, щоб забезпечити біодоступність в кровотоці. З найбільшою ефективністю це може бути досягнуте шляхом парентерального введення, включаючи внутрішньовенні (в.в.), внутрішньом'язові (в.м.), внутрішкірні, підшкірні (п.ш.) і внутрібрюшинні (в.б.) ін'єкції. Однак, можуть бути використані і інші шляхи введення. Наприклад, всмоктування через шлунково-кишковий тракт може бути досягнуте шляхом перорального введення (включаючи, але тим самим не обмежуючись, шляхи введення шляхом ковтання, "за щок" і "під язик"): при цьому відповідні препарати (наприклад, кишкові капсули) використовуються з метою недопущення або мінімізації деградації активного компонента - наприклад, в жорсткому середовищі слизових ротової порожнини, шлунка і (або) тонкого кишечника. З іншого боку, введення через слизову, наприклад, вагінальне або ректальне введення, можуть бути застосовані з метою недопущення або мінімізації руйнування в шлунково-кишковому тракті. Ще в одному альтернативному варіанті препарати по даному винаходу можуть бути введені через шкіру (тобто трансдермально) або шляхом інгаляції. Повинно бути зрозуміло, що вибір переважного шляху введення може варіюватися в залежності від стану, віку і режиму лікування реципієнта.

Конкретна доза агоністів АроА-I або пептидно-ліпідного комплексу буде варіюватися в залежності від способу введення і повинна визначатися таким чином, щоб забезпечити концентрацію циркулюючого засобу в плазмі крові від 100мг/л до 2г/л. Дані, отримані на тваринних моделях, описаних в даній заявці, показують, що агоністи АроА-I по даному винаходу зв'язуються з HDL-компонентом і характеризуються часом півжиття в організмі людини приблизно 5 днів. Отже, в одному з варіантів агоністи АроА-I можуть бути введені шляхом ін'єкції дозою від 0,5мг/кг до 100мг/кг з розрахунку 1 раз на тиждень. В іншому варіанті бажані сироваткові рівні можуть підтримуватися постійною інфузією або переривчастими інфузіями на рівні приблизно від 0,5мг/кг до 100мг/кг на годину.

Токсичність і терапевтична ефективність різних агоністів АроА-I можуть бути визначені з використанням стандартних фармацевтичних процедур в клітинних культурах або у лабораторних тварин шляхом визначення показника ЛД50 (доза, летальна для 50% популяції) або показника ЕД₅₀ (доза, ефективна по терапевтичним показникам для 50% популяції). Співвідношення доз по їх токсичному і терапевтичному вияву визначається як терапевтичний індекс: його виражають відношенням ЛД₅₀/ЕД₅₀. Переважними є ті пептидні агоністи АроА-I, які забезпечують високі значення терапевтичного індексу.

5.3.3. Фармацевтичні композиції

Фармацевтична композиція по даному винаходу містить пептидний агоніст АроА-I або пептидно-ліпідний комплекс як активний компонент в фармацевтично прийнятному носії, придатному для введення і доставки *in vivo*. Оскільки пептиди можуть включати кислі і (або) основні кінці і (або) бічні ланцюги, то такі пептиди можуть бути включені в композиції або в формі вільних кислот або основ, або в формі фармацевтично прийнятних солей.

Композиції для ін'єкцій містять стерильні суспензії, розчини або емульсії активного компонента у водному або масляному наповнювачі. Композиції також можуть містити спеціальні компоненти, такі як суспендуєчі, що стабілізують і (або) диспергуючі компоненти. Композиції для ін'єкцій можуть бути виконані у вигляді стандартних доз, наприклад, в ампулах або контейнерах для серії доз, а також в них можуть бути додані консерванти.

З іншого боку, композиції для ін'єкцій можуть бути приготовані у вигляді порошку, призначеного для відновлення відповідним розчинником, включаючи, але тим самим не вичерпуючись, стерильну апірогену воду, буфер, розчин декстрази і т.п., здійснювану перед застосуванням. У цьому відношенні агоніст АроА-I може бути ліофілізований або ж може бути приготований ліофілізований пептидно-ліпідний комплекс. Композиції, що запасаються можуть бути збережені у вигляді стандартних доз, які відновлюють безпосередньо перед застосуванням *in vivo*.

Для тривалого введення активний компонент може бути приготований у вигляді "депо"-препарату, призначеного для введення шляхом імплантування: наприклад, підшкірно, внутрішкірно або внутрішньом'язово. Отже, активний компонент може бути включений, наприклад, в композицію разом з відповідним полімерним або гідрофобним матеріалом (наприклад, у вигляді емульсії у відповідному маслі) або іоном-обмінною смолою, або у вигляді повільнорозчинюваних похідних: наприклад, у вигляді повільнорозчинюваних солей агоніста АроА-I.

З іншого боку, можуть бути застосовані трансдермальні доставочні системи, виконані у вигляді клейких дисків або капсул, які повільно виділяють активний компонент, що піддається при цьому внутрішкірному всмоктуванню. У цьому випадку можуть бути використані підсилювачі проникності, які поліпшують внутрішкірне переміщення активного компонента. Конкретні переваги можуть бути досягнуті шляхом включення агоністів АроА-I по даному винаходу або пептидно-ліпідного комплексу в нітрогліцеринові пластири, що застосовуються пацієнтами з ішемічною хворобою серця і гіперхолестеринемією.

Для перорального введення фармацевтичні композиції можуть мати, наприклад, форму таблеток або капсул, виготовлених за допомогою стандартних прийомів з фармацевтично прийнятними носіями, такими як зв'язуючі компоненти (наприклад, желатинізований кукурудзяний крохмаль, полівініліроїдон або гідроксипропілметилцелюлоза), наповнювачі (наприклад, лактоза, мікрокристалічна целюлоза або кислий фосат кальцію), що змащують компоненти (наприклад, стеарат магнію, тальк або кремнезем), дезінтегруючі компоненти

(наприклад, картопляний крохмаль або натрієвий крохмальгліолат) або змочувальні компоненти (наприклад, лаурилсульфат натрію). Таблетки можуть бути покриті з використанням методів, відомих в даній області техніки. Рідкі композиції для перорального введення можуть мати форми, наприклад, розчинів, сиропів або суспензій, або ж вони можуть бути сухим продуктом, призначеним для відновлення водою або іншими відповідними розчинниками перед використанням. Такі рідкі препарати можуть бути виготовлені із застосуванням стандартних прийомів і можуть включати додатково прийнятні суспендуючі агенти (наприклад, сорбітольний сироп, похідна целюлоза або гідрогеновані їстівні жири), емульгуючі компоненти (наприклад, лецитин або аравійська камедь), неводні розчинники (наприклад, мигдалеве масло, маслянистий ефір, етиловий спирт або ректифіковані рослинні масла) і консерванти (наприклад, метил- або пропіл-р-гідроксибензоати або сорбінова кислота). Композиції також можуть містити відповідні сольові буфери, ароматизатори, що підфарбовують речовини і підсолоджуючі компоненти. Композиції для перорального введення можуть бути приготовлені таким чином, щоб забезпечувати вихід активного компонента, що контролюється.

Для букального введення фармацевтичні композиції можуть бути стандартним шляхом приготовлені в формі таблеток або коржиків. Для ректального і вагінального введення активний компонент може бути введений у вигляді розчинів (для втримуючих клізм), супозиторіїв або мазей.

Для введення шляхом інгаляції активний компонент може бути стандартним чином приготовлений у вигляді аерозольних спреїв, таких як герметичні упаковки або розбризкувачі, з використанням відповідного розпилюючого засобу, наприклад, дихлордифторметана, трихлорфторметана, дихлортетрафторетана, двоокису вуглецю або іншого відповідного газу. У разі герметичної аерозольної упаковки стандартна доза може бути визначена шляхом установки спеціального клапана, відмірюючого певну кількість вмісту. Капсули і картриджі, наприклад, желатину, для використання в інгаляторі або порошковдувачі можуть бути приготовлені так, щоб містити порошок, що є сумішшю даної сполуки і відповідного порошкоутворюючого матеріалу, такого як лактоза або крохмаль.

Композиція, якщо це бажане, може бути представлена в упаковці або дозируючому пристрої, в якому може знаходитися одна або декілька стандартних доз, що включають активний компонент. Упаковка, наприклад, може бути виготовлена з металеві або пластмасові фольги, наприклад, у вигляді блистерної упаковки. До упаковки або дозуючого пристрою може додаватися інструкція для застосування.

5.4. Інші способи застосування

Агоністи ApoA-I по даному винаходу можуть бути використані в тестах in vitro, націлених на вимірювання сироваткового HDL, наприклад, для діагностичних цілей. Оскільки агоністи ApoA-I зв'язуються з HDL-компонентом сироватки, ці агоністи можуть бути використані як "маркери" популяції часток HDL. Більше за те, ці агоністи можуть бути використані як маркери тієї субпопуляції HDL, яка ефективна в системі ОТХ. У цьому випадку агоніст може бути доданий до зразка сироватки пацієнта або змішаний з нею: після відповідного часу інкубації HDL-компонент може бути протестований шляхом виявлення включеного агоніста ApoA-I. Цього можна досягти шляхом мічення агоніста (наприклад, із застосуванням радіоактивних міток, флуоресцентних міток, ферментних міток, барвників і т.п.) або в імунологічних тестах з використанням антитіл (або фрагментів антитіл), специфічних у відношенні конкретного агоніста.

З іншого боку, помічений агоніст може бути використаний у візуалізуючих процедурах (наприклад, в методах CAT-сканування, MRI-сканування) для візуалізації в кровотоці або для моніторингу ОТХ, або для візуалізації накопичення HDL в жировому відкладенні, атеросклеротичних бляшках і т.п. (де HDL повинні бути активні по виходу холестерину з клітин).

6. Приклад: синтез пептидних агоністів ApoA-I

Пептиди, описані в табл.10 (розділ 8.3) були синтезовані і охарактеризовані відповідно до описаного в нижченаведених підрозділах. Пептиди також були проаналізовані по структурних і функціональних параметрах відповідно до описаного тут в розділах 7 і 8.

6.1. Синтез базових пептидів

Пептиди були синтезовані в твердій фазі відповідно до методу Мерріфілда (Merrifield, 1969, J.Amer. Chem. Soc, 85, 2149-2154) з використанням 0,25ммоль полі-р-алкоксибензилового спирту (смола HMP) (Wang, 1973, J.Amer. Chem. Soc, 95, 1328-1333) і Fmoc-хімії. Всі реакції синтезу були здійснені із застосуванням автоматичного пептидного синтезатора Applied Biosystems ABI моделі 430A (Perkin-Elmer, Foster City, CA). Тривалість сольватації і активації для кожного циклу поєднання показані нижче в табл.5.

Таблиця 5					
Окремі цикли реакцій поєднання					
Назва циклу	Амінокислоти, що вносяться	Розчинник	Час	Час активації	Час перенесення*
Afmc31	Asn (trt), His (trt), Lys (Boe), Trp	~0,4мл DCM, ~1,2мл NMP, ~1,0мл НОВ/НМР	~7хв.	~51хв.	1=50сек 2=36сек
Afmc 32	Arg (Pmc), Gln (trt), Aib	~0,8мл DCM, ~1,2мл NMP, ~1,0мл НОВ/НМР	~32хв.	~51хв.	1=60сек 2=40сек
Afmc 33	Ala, Asp (OtBu), Glu (OtBu), Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro	~0,4мл DCM, ~0,8мл NMP, ~0,1мл НОВ/НМР	~4хв.	~36,5хв.	1=38сек 2=27сек

Afmc 34	Val	~0,4мл DCM, ~0,8мл NMP, ~0,1мл HOBT/NMP	~4хв.	~61,5хв.	1=38сек 2=27сек
* 1=перенесення з картриджа на активатор 2=перенесення з активатора на картридж DCC - дициклогексилкарбодімід; BOC - трет-бутилоксикарбоніл; HOBT - 1-гідроксибензотриазол; NMP - N-метилпіролідон; trt - тритил; Ptc - пентаметилхроман-6-сульфоніл; OtBu - трет бутиловий ефір					

Смоли промивали N-метилпіролідонем на кожному етапі реакції поєднання. Протокол одного циклу синтезу показаний нижче в табл.6.

Таблиця 6	
Протокол поєднання в одному циклі синтезу	
Операція	Час (хвилини)
1. Звільнення від захисту (10% піперидина в NMP)	20
2. Промивка в NMP	5
3. Реакція поєднання (4екв. Pтос-амінокислоти-HOBT-ефіру в NMP з 50-хвилинною преактивацією)	61
4. Промивка	5
5. Взяття зразка смоли (необов'язково)	3
УСЬОГО	92

Всі амінокислоти, за винятком Fmoc-B-(1-нафтил)аланіну, піддавали поєднанню в такому протоколі. Поєднання Pтос-B-(1-нафтил)аланіну здійснювали "вручну". Для неавтоматичного поєднання 1ммоль Fmoc-B-(1-нафтил)аланіну і 1моль 2-(1H-бензотриазол-1-іл)-1,1,3,3- тетра-метилуронийтет-рафторбората (TBTU) розчиняли в 5мл NMP і змішували з комплексом пептиду на смолі.

Після цього додавали 2ммоль N-етилдіізопропіламіна, суміш струшували протягом 2 годин і смолу з пов'язаним пептидом промивали 6 разів в 10мл NMP. Ефективність реакції поєднання контролювали з використанням тесту Кайзера (Kaiser, 1970, Anal. Biochem., 34, 59577) і при необхідності реакцію поєднання повторювали. Після поєднання нафтилаланіна реакції синтезу, що залишилися проводили автоматично відповідно до описаного вище.

6.2. Синтез пептидних амідів

Як визначено в табл.10 (розділ 8.3. даної заявки), пептидні аміди синтезували з використанням амідної смоли Рінка, що містить індуктор Fmoc-аміда Рінка - 4-(2', 4'-диметилфеніл)-Fmoc-феноксиметил (Rink, 1987, Tetrahedron Lett., 28, 3787-3790), і застосуванням протоколів синтезу, описаних вище в розділі 6.1.

6.3. Синтез пептидів, ацильованих по N-кінцю

Як визначається в табл.10 (розділ 8.3. даної заявки), ацильовані по N-кінцю форми пептидів були отримані шляхом обробки пов'язаних на смолі пептидів, синтезованих відповідно до описаного тут в розділах 6.1 і 6.2, відповідним ациліюючим агентом.

Для ацитильованих по N-кінцю пептидів 15мл розчину оцтового ангідрида (10% о/о в NMP) додавали до кожного 1г пов'язаного на смолі пептиду, суміш перемішували протягом 5 хвилин і смолу виділяли фільтруванням. Виділену смолу промивали тричі NMP (15мл) і тричі етанолом (15мл).

6.4. Відщеплювання і звільнення від захисту

Після синтезу пептиди, описані тут в розділах 6.1., 6.2. і 6.3., відділяли від смоли (полімерної підкладки) і звільняли від захисту з використанням відщеплювального розчину, що містить 92,5% трифтороцтової кислоти (TFA), 3,75% анізола і 3,75% додекантіола (о/о). Для досягнення відщеплення 10мл відщеплюючого розчину додавали до 0,25ммоль комплексу пептид-смола і перемішували протягом 1,5 годин при кімнатній температурі. Смолу видаляли шляхом відфільтровування і відщеплений і звільнений від захисту пептид осаджували діетиловим ефіром, промивали ефіром і висушували у вакуумі.

Відщеплюючий розчин для пептидів, що включають триптофан (W), рівно як і для пептидних амідів, містив 86,5% TFA, 4,5% води, 4,5% 1,2-етандитіола, 4,5% анізола і 3% фенола.

6.5. Очищення

Неочищені відщеплені пептиди, описані в розділі 6.4, піддавали очищенню з допомогою ВЕРХ із зверненою фазою. Чистоту кожного пептиду підтверджували за допомогою різних аналітичних процедур (аналітична ВЕРХ, електрофорез в капілярах). Електрофорез в капілярах проводили на спаяних силікагелевих капілярах довжиною 70 см, їх внутрішній діаметр становив 75мкм (Thermo Separation Products). Розділення проводили при 25°C, напруженні 15кВ, часу потоку 35 хвилин, з використанням двох буферних систем: буфер 1 (20мМ Na₂B₄O₇ - рН=9,2) і буфер 2 (10мМ Na₂HPO₄ - рН=2,5). Хроматографічне розділення здійснювали на колонках Nucleosil-7C18 або Nucleosil-7C4 (Macherey & Nagel, Німеччина) розміром 250x21мм при швидкості потоку 8мл/хв. Елюційний градієнт готували з використанням суміші 0,1% TFA у воді (розчинник А) і 0,1% TFA в ацетонітрилі (розчинник В). Градієнти, що використовувалися доводили з урахуванням потреб кожного з пептидів.

6.6. Характеристика

Визначення молекулярної маси і аналіз амінокислотного складу в очищених пептидах, описаних в розділі 6.5, здійснювали з методами мас-спектрометрії і амінокислотного секвенування, відповідно, так, як це описане нижче. Метод деградації по Едману використали для секвенування амінокислотної послідовності.

Мас-спектроскопія

Для визначення молекулярної маси використали доступний на комерційній основі 3-стадійний квадрупольний мас-спектрометр моделі TSQ-700 (Finnigan MAT, San Jose, CA, США). Для внесення зразка в іонізаційну камеру мас-спектрометру при атмосферному тиску використали пневматичний електророзпилювальний інтерфейс. Інтерфейс-розпилювач працював при позитивному напруженні 4,5кВ. Температура стального капіляра підтримувалася на рівні 200°C, при тому, що температура колектора іонів становила 70°C. Позитивні іони, що утворилися в даному процесі “випаровування іонів”, попадали в аналізатор мас-спектрометру. Підсилювач доводили до напруження 1000В. Аналізаторний пристрій мас-спектрометру знаходився в положенні 4Е-6. Всі визначення проводили при дозволі <1од.

Пептиди аналізували шляхом прямого вприску очищених пептидів з використанням мікроканальної системи ABI (Applied Biosystems), обладнаної шприцевим насосом (модель 140В), УФ-детектором (модель 785А) і “піччю-інжектором” (модель 112А). Сольвентна система складалася з води (розчинник А) і ацетонітрила (розчинник В): в кожному розчиннику містилося 0,1% TFA. Пептиди впорскували з використанням або градієнта, або ізократичних умов і елюювали з колонки Aquarog C18. Швидкість потоку звичайно становила 300мкл/хв. Концентрація кожного пептиду становила приблизно 0,03мг/мл, впорскували по 20мкл кожного з них (наприклад, 30пкмоль).

Експерименти по мас-спектроскопії з повним скануванням здійснювали шляхом сканування квадруполя 1 в межах m/z 500-1500 при 4s. Дані отримували з використанням установки Alpha-DEC і обробляли з використанням пакету програм, розробленого фірмою Finnigan MAT (Bio-works).

6.6.2. Аналіз амінокислотного складу

Аналіз амінокислотного складу проводили з використанням амінокислотного аналізатора моделі ABI 420 (Applied Biosystems). Ця система складається з трьох модулів: гідролізатора-дериватизатора, пристрою для ВЕРХ із зверненою фазою і аналізатора даних. Пептидні зразки вміщували (відбираючи їх в трьох повторностях) на пластинки з пористого скла і піддавали гідролізу під газовою фазою (155°C, 90 хвилин). Після видалення HCl отримані в результаті амінокислоти конвертували в РТС-AA (фенілтіокарбамоїл-амінокислоти) з використанням РІТС (фенілізотіоціаната). Після перенесення на НРС-контур для зразків отримані суміші фракціонували на колонках Aquarog C18 з використанням градієнта (розчинник А: 50ммоль ацетату амонію - pH=5,4, у воді; розчинник В: 32ммоль ацетату натрію у водному ацетонітрилі) в умовах температури, що контролюється. Дані ВЕРХ обробляли з використанням комп'ютерної програми, наданої фірмою Applied Biosystems. Кількісний аналіз здійснювали по відношенню до пептидного стандарту, також отриманого від Applied Biosystems.

6.7. Синтез розгалужених структур

Тетрамер-пептидильні і тример-пептидильні полімери синтезують відповідно до описаного у Demoor et al., 1996, Eur. J.Biochem., 239, 74-84. Тетрамерні і тримерні несучі матриці, пов'язані з полі-4-метилбензгидріламіном, потім використали як початкові пептидил-полімери в автоматичному синтезі базових пептидів у відповідності до раніше описаного.

Розгалужені структури, що включають спіральні сегменти різного амінокислотного складу, можуть бути синтезовані з використанням ортогонального синтезу і захисних стратегій, добре відомого в даній області техніки.

7. Приклад: структурний аналіз і аналіз скріплення ліпідів пептидами ApoA-I

Аналіз структурних характеристик і скріплення з ліпідами в очищених пептидах, синтезованих відповідно до описаного вище в розділі 6, проводили за допомогою методів кругового дихроїзму (КД), флуоресцентної спектроскопії і ядерного магнітного резонансу (ЯМР).

7.1. Круговий дихроїзм

Даний приклад описує переважний метод визначення міри спіральності базових пептидів по даному винаходу як у вільному стані в буфері, так і в присутності ліпідів.

7.1.1. Експериментальний протокол

Спектри кругового дихроїзму в короткохвильовому ультрафіолеті реєстрували в діапазоні між 190 і 260нм (при кроці 0,5 або 0,2нм) з використанням спектрометру AVIV62DS (AVIV Assoc, Lakewood, NJ, США), обладнаного термоелектричним тримачем осередків і пристроєм для заміни зразків. Для калібрування приладу використали (+)-10-камфорную кислоту. Для кожного зразка проводили від одного до трьох сканувань, використовуючи осередки з кварцового скла Suprasil з довжиною проходження 10, 5, 1 і 0,1см, відповідно для концентрацій пептиду від 10^{-7} М до 10^{-4} М. Фіксована ширина смуги становила 1,5нм, а швидкість сканування становила 1 крок по довжинах хвиль за 1 секунду. Представлені дані є середніми величинами, визначеними принаймні по 2 або 3 незалежних вимірюваннях.

Після віднімання величини фону спектральні характеристики перетворювали у величину молярної еліптичності (θ) залишку, виражену в град•см⁻²•дмоль⁻¹. Концентрацію пептиду визначали шляхом амінокислотного аналізу, а також з допомогою абсорбціометри на спектрофотометрі Perkin-Elmer Lambda 17 UV/Visible у випадках, коли до складу пептиду входив хромофор (триптофан, дансил, нафтилаланін).

Спектри КД були отримані для вільного, непов'язаного пептиду (5мкМ в 5мМ фосфатних буфері - pH=7,4), для комплексів пептиду з SUV (20:1 EPC:холестерин, Ri=30 і Ri=50), для комплексу пептиду з ліпідною міцелою (1-миристоїл-2-гідрокси-sn-гліцери-С-фосфатіділхолін, Ri=100) і для вільного непов'язаного пептиду в присутності 2,2,2-трифтор-етанола (TFE) (5мкМ пептиду, 90% TPE, o/o).

SUV були отримані шляхом диспергування ліпідів (10мМ, 20:1 EPC: холестерин, Avanti Polar Lipids, AL) в фосфатному буфері (5мМ - pH=7,4) з азотним барботажем протягом 5 хвилин з подальшим опроміненням ультразвуком (1/5 години) в сонікаційній ванні. Для оцінки гомогенності препарату застосовували

високорозрізняючу рідинну хроматографію (FPLC).

Міцели були отримані шляхом диспергування ліпиду (6мМ і-миристоїл-2-гідрокси-sn-глицеро-3-фосфатіділхолина, Avanti Polar Lipids, AL) в фосфатному буфері (5мМ - pH=7,4) при азотному барботажі протягом 5 хвилин з подальшим перемішуванням.

Для отримання комплексів пептид-SUV додавали SUV до пептиду (5мкМ в 5мМ фосфатного буфера - pH=7,4) при молярному відношенні фосфоліпиду і пептиду (Ri) в межах 30-50.

Для отримання комплексу пептиду і ліпідної міцели додавали до пептиду (5мкМ в 5мМ фосфатного буфера - pH=7,4) при Ri=100.

Всі спектри реєстрували при 37°C. Стабільність пептиду 4 (SEQ ID NO 4), як функцію температури (як вільного в буфері, так і в складі комплексу з міцелою), визначали шляхом реєстрації спектрів в серіях різних температур.

Крім того, визначали ступень спіральності пептиду 4 (SEQ ID NO 4), як функцію його концентрації.

7.1.2. Визначення рівня спіральності

Ступень спіральності пептидів в різних умовах визначали по середній величині еліптичності залишку нарівні 222нм (Chen et al, 1974, Biochemistry, 13, 3350-3359) або шляхом порівняння КД-спектрів, отриманих по відношенню до контрольних спектрів, доступних в базах даних (16 контрольних спіральних спектрів, представлених Provencher & Glockner, 1981, Biochemistry, 20, 33-37, і контрольних спектрів денатурованих білків, представлених Venyaminov et al., 1993, Anal. Biochem., 214, 17-24) з використанням програми побудови кривих CONTIN, версія 2DP, пакет CD-I (серпень 1982) (Provencher, 1982, Comput. Phys. Commun., 27, 213-227, 229-242). Прийнятну величину визначали з використанням статистичного аналізу, що входить в алгоритм програми CONTIN. Помилка у всіх методах становила $\pm 5\%$ від загального рівня спіральності.

7.1.3. Результати

Дані по рівню спіральності (%) вільних, недов'язаних пептидів, в комплексах "пептид-SUV", комплексах "пептид-міцела" і розчині "пептид-TFE" включені в табл.10, приведену тут в розділі 8.3. Рівні спіральності пептиду 4 (SEQ ID NO 4), виражені як функції концентрації (вільного і пов'язаного з ліпідами пептиду), представлені в табл.7.

Таблиця 7			
Рівень спіральності (%) пептиду 4 (SEQ ID NO 4) як функція концентрації			
Концентрація (мкМ)	Вільний пептид	Пов'язаний з міцелою	У розчині з TFE
0,15	42	65	-
0,40	58	68	-
2,0	63	-	-
5,0	80	95	-
50,0	-	-	94

Пептид 4 (SEQ ID NO 4) характеризується істотним утворенням А-спіралі (спіральність 80%) в буфері при концентрації 5мкМ. Хоч при зниженні концентрації пептиду відбувається зниження рівня спіральності, цей показник залишався істотним (42%) навіть при такій низькій концентрації як 0,15мкМ. Більш того А-спіральна структура виявляється повністю стабільною в діапазоні температур 5-45°C (дані в заявці не включені).

Спіральність пептиду 4 (SEQ ID NO 4) зростає в присутності і SUV (спіральність 97%), і міцели (спіральність 95%), а також в присутності TFE (спіральність 94%) - тобто розчинника, який, завдяки дуже низькій діелектричній постійній ($E=26,7$) в порівнянні з водою ($E=78,4$), стабілізує А-спіралі і внутріпептидні водневі зв'язки при концентраціях в межах 5-90% (о/о).

Звертаючись до табл.10 в розділі 8.3 заявки (нижче), можна бачити, що ті пептиди, які виявляють високий рівень активації LCAT ($\geq 3,8\%$), загалом виявляють і істотну активність в утворенні А-спіралі в присутності ліпідів ($\geq 60\%$ спіральності у випадку незаблокованих пептидів, що складаються з 22 і більшого числа амінокислот або заблокованих пептидів, що складаються з 18 або меншого числа амінокислот; $\geq 40\%$ спіральності у випадку не заблокованих пептидів, що складаються з 18 або меншого числа амінокислот), в той час як пептиди, які слабо зумовлюють активацію LCAT або не зумовлюють її зовсім, характеризуються низьким рівнем А-спіральності. Однак, в ряді варіантів пептиди, що характеризуються інтенсивним утворенням А-спіралі в присутності ліпідів, не зумовлюють істотної активації LCAT. Як наслідок, здатність базових пептидів по даному винаходу адаптувати свою А-спіральну структуру в присутності ліпідів розглядається як ключова властивість базових пептидів по даному винаходу, тому що здатність утворювати А-спіраль в присутності ліпідів є первинним чинником (передумовою) по відношенню до властивості активувати LCAT.

7.2. Флуоресцентна спектроскопія

Властивості зв'язувати ліпіди у пептидів, синтезованих відповідно до описаного вище в розділі 6, тестували шляхом виміру рівня флуоресценції у помічених пептидів, для чого в цьому випадку використовувалися триптофан (W) або нафтил-аланін (Nal). Флуоресцентні спектри реєстрували на приладі Fluoromax (Spex, Jobin-Yvon), оснащеному ксеноновою лампою потужністю 150Вт, двома монохроматорами (збудження і емісії), фотопомножувач R-928, призначеним для забезпечення чутливості детекції в червоній області спектра до 850нм, і термоелектричним держателем для кювет з магнітною мішалкою. Кювети з кварцового скла Suprasil використовували для вимірювань на рівні мікромольних концентрацій. Прилад, той, що має щілині змінної ширини (від 0,4 до 5нм) забезпечує модулювання падаючої і емітуємої інтенсивності

відповідно до концентрації пептиду, що аналізується. Представлені в результатах значення, як правило, були середніми величинами, визначеними по 2-4 спектрах. Концентрацію пептидів визначали з допомогою абсорбціометри на приладі Philips PU-8800 з використанням смуг поглинання триптофану ($E_{280-11M}=5550M^{-1}cm^{-1}$ в Трис-буфері) або NaI ($E_{280-11M}=92770^{-1}cm^{-1}$ в метанолі).

Флуоресцентні спектри пептидів реєстрували в діапазоні довжин хвиль 290-450нм в буфері Трис-HCl (20мМ, pH=7,5) в присутності і у відсутності ліпідних везикул. Невеликі моношарові везикули утворювалися після регідратації в буфері ліофілізованих фосфоліпідів, їх диспергування і ультразвукової обробки в потоку азоту. У якості ліпідів використали яєчний фосфатиділхолін PC/Chol. (20:1), а також POPC/Chol. (20:1). Спектри реєстрували при концентрації пептиду 2мкМ і при температурі 37°C. У випадку з триптофаном як референсного стандарту використали N-ацетилтриптофаніламід (NATA).

Аналіз скріплення ліпідів проводили при поступовому доданні ліпідних везикул до пептиду в розчині при концентрації 2мкМ (світлові щілини: 5нм при збудженні і 1,5нм при випусценні). Ефект розбавлення був такий, що брався до уваги при визначенні інтенсивності флуоресценції. Концентрації ліпідів варіювалися від 10 до 600мкМ і молярне відношення "ліпід/пептид" (Ri) варіювалося від 5 до 300. І для триптофану, і для NaI довжина хвилі збуджуючого світла становила 280нм.

7.2.1. Флуоресцентний спектральний аналіз

Безпосередньо записані дані піддавали комп'ютерній обробці на персональній ЕОМ, підключеній до спектро-флуориметру з використанням пакету DM3000F фірми Spex. Спектри коригували шляхом віднімання фону розчинника і застосування коефіцієнта, запропонованого розробником для обліку зміни чутливості фотопомножувача в залежності від довжини хвилі.

Спектри флуоресценції пептидів характеризували по довжині хвилі в точці максимальної флуоресценції і по квантовому виходу флуоресценції в порівнянні з еталоном (NATA) у випадку, коли пептиди були помічені триптофаном. Процес скріплення ліпідів аналізували шляхом визначення зсуву в довжині хвилі в точці максимальної флуоресценції (λ_{max}) і варіанти відносної інтенсивності флуоресценції по відношенню до концентрації ліпідів. Відносну інтенсивність флуоресценції визначали по наступному відношенню: $(I-I_0)/\lambda_{max}/I_0\lambda_{max}$. Величини I і I_0 визначали при λ_{max} , відповідною початковому вільному стану пептидів, вільних від ліпідів. Величина I - інтенсивність при певному відношенні "ліпід/пептид", а I_0 - той же параметр, що визначається у відсутності ліпідів. Відсутність цих змінних відповідає відсутності взаємодій між пептидами і ліпідами.

7.2.2. Результати і обговорення

Дані по параметрах скріплення ліпідів пептидом 15 (відповідає пептиду 4 і відрізняється наявністю залишку триптофана в 10-м положенні) (SEQ ID NO 15) показані в табл.8.

Таблиця 8		
Параметри скріплення пептид 15 (SEQ ID NO 15) з жировими пухирцями відповідно до вимірювань флуоресценції		
Молярне відношення "ліпід/пептид" (Ri)	I/I ₀	λ_{max} (нм)
0	0	332
5	10,8	323
10	13,2	323,5
30	17,5	323
100	26,4	323
200	43,5	323

Максимум емісії триптофана (λ_{max}) при 332нм вказує на те, що в буфері пептид при концентрації 2мкМ в незначній мірі самоасоціюється. Пептид зв'язує ліпідні везикули (яєчний PC/Chol. 5%) з дуже високим рівнем афінності, що видно із "затінення" триптофана (максимум його емісії по показнику довжини хвилі зміщується з 332нм до 323нм) і значному наростанню інтенсивності флуоресценції (див. табл.8). Максимальне затінення залишку триптофана спостерігається при дуже низькому молярному відношенні "ліпід/пептид" (Ri=5).

Інші пептиди, які виявляють високий рівень спіральності в присутності ліпідів ($\geq 60\%$ спіральності у разі незаблокованих пептидів, що складаються з 22 і більшого числа амінокислот або заблокованих пептидів, що складаються з 18 або меншого числа амінокислот; $\geq 40\%$ спіральності у випадку незаблокованих пептидів, що складаються з 18 або меншого числа амінокислот), на що вказують дані тесту на круговий дихроїзм, описаного вище в розділі 7.1., також виявляють добрі властивості, по скріпленню ліпідів. Зрозуміло, що всі пептиди, які були відібрані для тестування на круговий дихроїзм, були такими пептидами, які могли бути протестовані на скріплення ліпідів у флуоресцентному тесті.

7.3. Ядерний магнітний резонанс (ЯМР)

Даний приклад описує метод ЯМР, призначений для аналізу структури базових пептидів по даному винаходу.

7.3.1. Приготування зразків для ЯМР

Зразки готували шляхом розчинення 5мг пептиду в суміші 90% H_2O і 10% D_2O , що містить слідові кількості 2,2-диметил-2-сила-5-пентансульфоната (DSS), взятій в якості внутрішнього стандарту для визначення величин хімічного зсуву. Деякі із зразків містили трифторетанол (TFE) (вказаний в об'ємних %). Загальний об'єм зразка становив 500мкл при концентрації пептиду в ньому 5мМ.

7.3.2. Спектроскопія ЯМР

Протонні спектри отримували на частоті 500МГц з використанням спектрометра Bruker DRX500, оснащеного пристроєм B-VT2000 для контролю температури. Одно- і двомірні експерименти записували з використанням стандартної послідовності імпульсів ("Two-Dimensional NMR Spectroscopy", eds. W.R.Croasum & R.M.K.Carlson/1994, VCH Publ., NY). Водосупресії досягали шляхом попереднього 2-секундного насичення при низькій потужності. Експерименти в двомірному масштабі проводили в фазочутливому режимі з використанням пропорційного часу приросту фази і ширини спектра 6кГц в обох вимірюваннях. Звичайно проводили 40 підсумованих сканувань для приростів $400t_1$ з отриманням 2048 показників. Отримані дані обробляли з використанням програми FELIX95 (Molecular Simulations) на EOM INDIGO2 (Silicon Graphics). Дані доповнювали нульовими значеннями, щоб отримати матрицю даних $2K \times 2K$ і представляли у вигляді зміщеної на 45° квадратичної синусоїдальної функції.

7.3.3. Проведення ЯМР

Параметри повного протонного резонансу були отримані шляхом застосування методики послідовного зіставлення параметрів, отриманих в спектрах DQFCOSY, TOCSY і NOESY відповідно до описаного в літературі (Wuthrich, "NMR of Proteins and Nucleic Acids", J.Wiley & Sons, NY). Повторні хімічні зсуви визначали для протонів HN і Ha шляхом віднімання величин випадкового хімічного зсуву, що є в таблицях (Wishart & Sykes, 1994, Methods Enzymol., 239, 363-392), з відповідних експериментальних значень.

7.3.4. Результати і обговорення

Загальні міркування. Амфіпатичні утворюючі спіраль пептиди мають тенденцію до агрегування у водних розчинах при високих концентраціях, які потрібні для проведення ЯМР-спектроскопії, що робить ускладненим отримання спектрів з високим розрізненням. Наприклад, ЯМР-спектри вибраного в якості прикладу білка 4 (SEQ ID NO 4) у воді приводять до отримання дуже широких смуг. У результаті резонанси кожної окремої амінокислоти виділені бути не можуть. Додання TFE до зразка підвищує розрізнення відповідних спектрів. Відомо, що TFE підвищує розчинність пептидів, а крім того і стабілізує спіральні конформації пептидів, що характеризуються схильністю до спіральності. Дані ЯМР-спектроскопії були отримані для білка 4 (SEQ ID NO 4), взятого в якості репрезентативного прикладу. Для порівняння досліджували консенсусну 22-амінокислотну послідовність Segrest (SEQ ID NO 75).

Повторні хімічні зсуви. Протонні хімічні зсуви амінокислот залежать і від самого залишку, і від локальної властивості просторової структури пептиду або білка (Szlagyi, 1995, Progr. Nucl. Magnetic Resonance Spectroscopy, 27, 325-443). Отже, ідентифікація регулярних повторних структур є можливою шляхом порівняння експериментальних зсувів з табульованими значеннями для випадкових конформацій витків (спіралі).

Утворення А-спіралі звичайно приводить до зсуву в більш сильне поле (негативні величини δ) для резонансу Ha. Виявлення зсувів Ha в більш сильне поле для декількох розташованих підряд амінокислотних залишків є підтвердженням наявності спіральної структури. Повторні зсуви Ha для пептиду 4 (SEQ ID NO 4) в 25% TFE при 295 K вказують на істотний негативний зсув для залишків від 4-го до 19-го (Фіг.9А), що підтверджує наявність сильноспіралізованої конформації. Лише невеликі відмінності в порівнянні з пептидом 4 (SEQ ID NO 4) були виявлені для величин хімічного зсуву Ha для консенсусного 22-мера (SEQ ID NO 75).

Величини хімічного зсуву протонів в складі амідів амінокислотних залишків в ділянці А-спіралі також зміщені в більш сильне поле в порівнянні з хімічними зсувами, відомими у випадковій спіралі. Крім того, може бути виявлена періодичність зсувів HN - і вона буде відображати період витка даної спіралі. Амплітуда мінливості зсувів по довжині послідовності залежить від параметрів амфіпатичності створюючого спіраль пептиду. Наявність високого значення гідрофобного моменту приводить до більш виражених коливань значень (Zhou et al., 1992, J.Amer. Chem. Soc, 114, 4320-4326). Повторні зсуви для HN пептиду 4 (SEQ ID NO 4) в 25% розчині TFE при 295 K демонструють таку мінливість значень, яка узгодиться з амфіпатичною природою даної спіралі (Фіг.9В). Хімічні зсуви амідів консенсусної 22-мірної послідовності (SEQ ID NO 75) в істотній мірі відрізняються від таких, встановлених для пептиду 4 (SEQ ID NO 4). Зокрема, заміна залишків 5, 9 і 13 на залишки лейцину (L) зумовлює появу хімічних зсувів з більш вираженою періодичністю у випадку з пептидом 4 (SEQ ID NO 4). Цей ефект розповсюджується навіть до 17-й амінокислоти і в меншій мірі до 21-го залишку. Виходячи з даних застосування ЯМР, для даної послідовності може бути передбачено існування 5-6 витків. Отже, заміна трьох амінокислот порушує просторове укладання (фолдінг) пептиду по всій його довжині. Параметри ЯМР точно відображають більш виражену амфіпатичну природу пептиду 4 (SEQ ID NO 4) в порівнянні з консенсусною 22-мірною послідовністю Segrest (SEQ ID NO 75).

Повторний зсув амідного протона залежить від довжини водневого зв'язку з карбонільним атомом кисню, що знаходиться в сусідньому витку даної спіралі. Отже, періодичність значень хімічного зсуву, що спостерігаються відображає наявність довжин водневих зв'язків, що варіюються. Ця відмінність пов'язана із загальним характером викривлення осьового ланцюга даної спіралі. Гідрофобні залишки розташовуються на угнутих ділянках. Параметри повторних зсувів у пептиду 4 (SEQ ID NO 4) вказують на викривлений характер даної А-спіральної конформації.

7.3.5. Утворення спіралі пептидами, що включають у внутрішніх положеннях залишки гліцину в присутності TFE

Трьохмірна організація пептиду 8 (SEQ ID NO 8) була визначена в присутності TFE з використанням ядерного ефекту Оверхаузера (NOE), що відображає взаємозалежність міжпротонних відстаней. Зокрема, присутність середньовиражених ефектів NOE (daN_3 , daB_3 , daN_4) протягом повної послідовності узгоджується з наявністю загальної А-спіральної конформації. Виходячи з даних ЯМР було визначено сімейство конформерів; генеровані структури добре уклалися на ділянці від 4-й до 19-й амінокислот при величині RMSD вуглецевого скелета $<0,8$. Å. Наявність викривленої спіральної структури була підтверджена шляхом стереоскопічного

представлення у вигляді усередненої стрічки разом з лініями вуглецевого скелета 15 самих низькоенергетичних конформерів. Приблизна оцінка дозволила визначити, що вигин спіралі зумовлює наявність кута 20° між N-кінцевою і C-кінцевою "половинами" пептиду. Гідрофобні залишки в основному виявляються на угнутій стороні, за винятком лейцина-5. Виразний гідрофобний кластер розташований в центральній частині "навколо" фенілаланіна-6 і включає лейцин-3, лейцин-9 і лейцин-10. Оскільки обороти спіралі починаються від 3-го залишку поблизу N-кінця пептиду, існування множинних ефектів NOE аж до 22-го залишку вказує на те, що спіраль тягнеться до самого C-кінця цього пептиду.

8. Приклад: тест на активацію LCAT

Пептиди, синтезовані відповідно до описаного вище в розділі 6, були проаналізовані в моделі *in vitro* по їх здатності активувати фермент LCAT. У даному LCAT-тесті везикули що є субстратами (невеликі одношарові везикули - "SUV"), складені яєчним фосфатіділхолином (EPC) або 1-пальмітоїл-2-олеїлфосфатіділхолином (POPC) і радіоактивно помічений холестерин проінкубують з еквівалентною кількістю або пептиду, що тестується, або AroA-I (виділеної з плазми людини). Реакцію ініціювали додаванням LCAT (виділена і очищена з плазми людини). Нативний AroA-I, який використовувався як позитивний контроль, представляв 100%-у ефективність активації. "Специфічна активність" (тобто число од. активності активованого LCAT, співвіднесене до числа одиниць молекулярної маси) пептидів може бути розраховано, як концентрація пептиду, яка зумовлює максимальний рівень активації LCAT. Наприклад, серія концентрацій пептиду (наприклад, обмежуюче розведення) може бути протестована з метою визначення "специфічної активності" конкретного пептиду - суть концентрації, яка забезпечує максимальну активацію LCAT (тобто процент конверсії холестерину в ефір холестерину) в конкретний момент часу в даному тесті (наприклад, протягом 1 години). Шляхом співвіднесення на графіку відсотка конверсії холестерину, наприклад, за 1 годину, з концентрацією пептиду, що тестується "специфічна активність" може бути визначена як концентрація пептиду, створююча плато на графіку.

8.1. Приготування пухирців-субстратів

Везикулами, що використовувалися в LCAT-тесті, були ліпідні везикули SUV, утворені яєчним фосфатіділхолином (EPC) або 1-пальмітоїл-2-олеїлфосфатіділхолином (POPC) і холестерином при молярному відношенні 20:1. Для отримання везикул запасний розчин, достатній для проведення 40 тестів, 7,7мг EPC (або 7,6мг POPC; 10мкмоль), 78мкг (0,2мкмоль) 4-¹⁴Cхолестерина, 116мкг холестерину (0,3мкмоль) розчиняли в 5мл ксилолу і ліофілізували. Після цього 4мл тесту-буфера додавали до сухого порошку і обробляли ультразвуком в атмосфері азоту при 4°C. Умови впливу ультразвука: сонікатор Branson-250 з 10-мм наконечником, експозиція 6х5 хвилин; тест-буфер - 10мМ Трис, 0,14М HCl, 1мМ EDTA, pH=7,4). Оброблену суміш центрифугували 6 разів протягом 5 хвилин при 14000об/хв (16000g) з метою видалення часток титана. Отриманий прозорий розчин використовували в LCAT-тесті.

8.2. Очищення LCAT

Для очищення LCAT застосовують обробку плазми крові людини декстрансульфатом з іонами магнію з метою отримання дефіцитної по ліпопротеїнам сироватки (LPDS), яку потім послідовно піддавали хроматографічній обробці на Phenylsepharose, Affigelblue, Concanavalin A sepharose і методом афінної до AroA-I хроматографії, параметри якої приведені нижче в табл.9.

Таблиця 9					
Очищення LCAT					
Фракція	Загальний об'єм (мл)	Загальний білок (мг)	Загальна активність нмоль СЕ/мг-год	Вихід (%)	Кратність очищення
Плазма	550	44550	63706		
LPDS	500	31000	62620	98	1,4
Phenylsepharose	210	363	51909	82	100
Affigelblue	95	153	25092	39	115
Sephacrose ConA	43	36	11245	18	220
Афінна до AroA-I	120	3,5	5500	9	1109

8.2.1. Приготування LPDS

Для приготування LPDS 500 мл плазми додають до 50мл розчину декстрансульфата (мол.маса =500000). Перемішують 20 хвилин. Центрифугують протягом 30 хвилин при 3000об/хв (16000g) при 4°C. Використовують надосадкову фракцію (LPDS) для подальшого очищення (≈500мл).

8.2.2. Хроматографія з фенілсефарозой

Наступні матеріали і умови аналізу були застосовані для хроматографії з фенілсефарозой.

Тверда фаза: Phenylsepharose швидкоплинна, вх, Pharmacia.

Колонка: XK26/40, висота гелевого шару - 33см, об'єм ≈175мл.

Швидкість потоку: 200мл/година (зразок).

Промивка: 200мл/година (буфер).

Елюція: 80мл/година (дистильована вода).

Буфер: 10мМ Трис, 140мМ NaCl, 1мМ EDTA - pH=7,4, 0,01% азиду натрію.

Врівноважують колонку Трис-буфером, додають 29г NaCl до 500мл LPDS і завантажують на колонку. Промивають декількома об'ємами Трис-буфера до того моменту, як поглинання при довжині хвилі 280нм досягне приблизно фоновому рівню, і починають елюцію дистильованою водою. Фракції, ті, що містять білок об'єднують в пули (розмір пулу - 180мл) і використовують для хроматографії з Affigelblue.

8.2.3. Хроматографія з Affigelblue

Пул після хроматографії з Phenylsepharose діалізують протягом ночі при 4°C проти 20мМ Трис-НСl (рН=7,4), 0,01% азиду натрію. Об'єм пулу скорочують шляхом ультрафільтрації (Amicon YM30) до 50-60мл і завантажують на колонку з Affigelblue.

Тверда фаза: Affigelblue (Biorad), колонка 153-7301, ХК26/20, висота гелевого шару - близько 13см, об'єм колонки - приблизно 70мл.

Швидкість потоку: при завантаженні - 15мл/година, при промивці - 50мл/година.

Врівноважують колонку Трис-буфером. Завантажують фенілсефарозний пул на колонку. Починають паралельний відбір фракцій. Промивають Трис-буфером. Об'єднані фракції (170мл) використовують для хроматографії з конканаваліном-А (ConA).

8.2.4. Хроматографія з ConA

Пул, отриманий в хроматографії з Affigelblue, скорочують в об'ємі за допомогою ультрафільтрації (Amicon YM30) до 30-40мл і діалізують проти ConA-стартового буфера (1мМ Трис-НСl - рН=7,4; 1мМ MgCl₂, 1мМ MnCl₂, 1мМ CaCl₂, 0,01% азиду натрію) протягом ночі при 4°C.

Тверда фаза: ConA sepharose (Pharmacia). Колонка: ХК26/20, висота гелевого шару - 14см (75мл). Швидкість потоку: при завантаженні - 40мл/година, при промивці (стартовим буфером) - 90мл/година; при елюції (0,2М метил-А-D-манозида в 1мМ Тріс - рН=7,4) - 50мл/година.

Білкові фракції, отримані в результаті елюції манозидом збирають (110мл) і зменшують в об'ємі до 44мл за допомогою ультрафільтрації (YM30). ConA-пул розділяли на аліквоти по 2мл, які запасали при -20°C.

8.2.5. Афинна хроматографія до АроА-I

Афинну хроматографію до АроА-I здійснювали з використанням матеріалу Affigel-Hz (Biorad), до якого ковалентним чином приєднували антитіла до АроА-I.

Колонка: ХК16/20 об'ємом 16мл. Колонку врівноважували фосфатно-сольовим буфером (рН=7,4). По 2мл ConA-пулу діалізували проти фосфатно-сольового буфера протягом 2 годин з подальшим завантаженням на колонку.

Швидкість потоку: при завантаженні - 15мл/година, при промивці (ФСБ) - 40мл/година.

Об'єднані білкові фракції (об'єм 14мл) використали в LCAT-тесті.

Колонку відновлювали з використанням 0,1М цитратного буфера (рН=4,5), що забезпечує елюцію пов'язаного АроА-I (100мл), і негайно після цієї процедури врівноважували фосфатно-сольовим буфером.

8.3. Результати

Результати, отримані в тесті на активацію LCAT, представлені нижче в табл.10.

Таблиця 10							
Активация LCAT, обусловлена обранными в качестве пептидами							
Пептид		Амінокислотна послідовність	Активність LCAT (%)	He (%) вільний	He (%) міцели	He (%) SUVs	He (%) TFE
1	(SEQ ID NO: 1)	PVLDLDFRELLHELLEZLKQKCLK	120%	77	85	81	69
2	(SEQ ID NO: 2)	GVLDLDFRELLMELLEALKQKCLK	105%				
3	(SEQ ID NO: 3)	PVLDLDFRELLMELLEWLKQKCLK	98%	70	95	80	95
4	(SEQ ID NO: 4)	PVLDLDFRELLNELLEALKQKCLK	93%	80	95	97	94
5	(SEQ ID NO: 5)	pVLDLDFRELLNELLEALKQKCLK	90%				
6	(SEQ ID NO: 6)	PVLDLDFRELLNEXLEALKQKCLK	80%	57	93	70	99
7	(SEQ ID NO: 7)	PVLDLDFKELLNELLEALKQKCLK	83%	77	89	85	73
8	(SEQ ID NO: 8)	PVLDLDFRELLNEGLEALKQKCLK	83%	20	90	61	93
9	(SEQ ID NO: 9)	PVLDLDFRELGNELLEALKQKCLK	83%				
10	(SEQ ID NO: 10)	PVLDLDFRELLNELLEAZKQKCLK	79%	60	87	70	71
11	(SEQ ID NO: 11)	PVLDLDFKELLQELLEALKQKCLK	72%				
12	(SEQ ID NO: 12)	PVLDLDFRELLNELLEAGKQKCLK	70%				
13	(SEQ ID NO: 13)	GVLDLDFRELLNEGLEALKQKCLK	67%				
14	(SEQ ID NO: 14)	PVLDLDFRELLNELLEALQOLO	61%	70	96	80	
15	(SEQ ID NO: 15)	PVLDLDFRELWNELLEALKQKCLK	60%	55	60	64	68
16	(SEQ ID NO: 16)	PVLDLLRELLNELLEALKQKCLK	59%				
17	(SEQ ID NO: 17)	PVLELDFKELLQELLEALKQKCLK	59%				
18	(SEQ ID NO: 18)	GVLDLDFRELLNELLEALKQKCLK	58%				
19	(SEQ ID NO: 19)	pVLDLDFRELLNEGLEALKQKCLK	58%				
20	(SEQ ID NO: 20)	PVLDLPREGLNELLEALKQKCLK	57%				
21	(SEQ ID NO: 21)	pVLDLDFRELLNELLEALKQKCLK	57%				

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

22	(SEQ ID NO: 22)	PVLDLPRELLNELLEGLKQKLIK	54%				
23	(SEQ ID NO: 23)	PLLELPKELLQELLEALKQKXXK	54%				
24	(SEQ ID NO: 24)	PVLDLFRELLNELLEALKQKLIK	53%				
25	(SEQ ID NO: 25)	PVLDFFRELLNEXLEALKQKLIK	51%	46	82		93
26	(SEQ ID NO: 26)	PVLDLFRELLNELLELLKQKLIK	47%				
27	(SEQ ID NO: 27)	PVLDLFRELLNELZEALKQKLIK	44%	72	92	82	81
28	(SEQ ID NO: 28)	PVLDLFRELLNELWEALKQKLIK	40%	82	98	90	81
29	(SEQ ID NO: 29)	AVLDLFRELLNELLEALKQKLIK	39%				
30	(SEQ ID NO: 30)	PVLDLFRELLNELLEALKQKLIK*	38%	85	90	98	90
31	(SEQ ID NO: 31)	PVLDLPLELLNEXLEALKQKLIK	34%	49	98		90
32	(SEQ ID NO: 32)	XVLDLFRELLNELLEALKQKLIK	33%				
33	(SEQ ID NO: 33)	PVLDLFREKLNELLEALKQKXXK	33%				
34	(SEQ ID NO: 34)	PVLDZFRELLNELLEALKQKLIK	32%	58	67	68	62
35	(SEQ ID NO: 35)	PVLDWPRELLNELLEALKQKLIK	31%	49 (Sp)	59	61	
36	(SEQ ID NO: 36)	PLLELLKELLQELLEALKQKLIK	31%	95	100		95
37	(SEQ ID NO: 37)	PVLDLFREWLNELLEALKQKLIK	29%	65	75	76	73
38	(SEQ ID NO: 38)	PVLDLFRELLNEXLEAWKQKLIK	29%	25	49	21	49
39	(SEQ ID NO: 39)	PVLDLFRELLEELLKALKKKLIK	25%	66	69	68	72
40	(SEQ ID NO: 40)	PVLDLFNELLRELLEALKQKLIK	25%	66	84	79	77
41	(SEQ ID NO: 41)	PVLDLWRELLNEXLEALKQKLIK	25%	53	73	85	69
42	(SEQ ID NO: 42)	PVLDEFREKLNEXWEALKQKLIK	25%	15	74	27	76
43	(SEQ ID NO: 43)	PVLDEFREKLWEXLEALKQKLIK	25%				
44	(SEQ ID NO: 44)	pvldefreklnexlealkqklik	25%	20	86		
45	(SEQ ID NO: 45)	PVLDEFREKLNEXLEALKQKLIK	24%	24	84	25	86
46	(SEQ ID NO: 46)	PVLDLFREKLNEXLEALKQKLIK	23%	30	86	58	85
47	(SEQ ID NO: 47)	~VLDLFRELLNEGLEALKQKLIK	23%				
48	(SEQ ID NO: 48)	pVLDLPRELLNELLEALKQKLIK	22%				
49	(SEQ ID NO: 49)	PVliDLFRNLEKLEALEQKLIK	22%	57	65	52	57
50	(SEQ ID NO: 50)	PVLDLFRELLWEXLEALKQKLIK	21%	68	84	89	76
51	(SEQ ID NO: 51)	PVLDLFMELLNEXLEALKQKLIK	20%	63	82	81	73
52	(SEQ ID NO: 52)	PWVDEFREKLNEXLEALKQKLIK	20%	Sp	Sp	Sp	
53	(SEQ ID NO: 53)	WLDLFRELLNELLEALKQKLIK	19%				
54	(SEQ ID NO: 54)	PVLDLFRELLNEWLEALKQKLIK	19%	76	71	84	78
55	(SEQ ID NO: 55)	P~~~~LFRELLNELLEALKQKLIK	19%	38	72	78	75
56	(SEQ ID NO: 56)	PVLDLFRELLNELLEALKQKKK	18%				
57	(SEQ ID NO: 57)	PVLDLFRNLEELLKALEQKLIK	18%				

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

58	(SEQ ID NO: 58)	PVLDEPREKLNEXLEALKQKL-	18%				
59	(SEQ ID NO: 59)	LVLDLPRELLNELLEALKQKLK	17%				
60	(SEQ ID NO: 60)	PVLDLFRELLNELLEALKQ~~~	16%	39	83	66	84
61	(SEQ ID NO: 61)	PVLDEFRWKLNEXLEALKQKLK	16%				
62	(SEQ ID NO: 62)	PVLDEWREKLNEXLEALKQKLK	16%	15	85	43	
63	(SEQ ID NO: 63)	PVLDFFREKLNEXLEALKQKLK	16%				
64	(SEQ ID NO: 64)	PWLDEPREKLNEXLEALKQKLK	15%				
65	(SEQ ID NO: 65)	~VLDEFREKLNEXLEALKQKLK	15%				
66	(SEQ ID NO: 66)	PVLDLFRNLEEELLEALKQKLK	15%	64	82	66	70
67	(SEQ ID NO: 67)	~VLDLFRELLNELLEALKQKLK	14%	81	90	84	94
68	(SEQ ID NO: 68)	PVLDEFRELLKEXLEALKQKLK	14%				
69	(SEQ ID NO: 69)	PVLDEFRKLNEXLEALKQKLK	13%				
70	(SEQ ID NO: 70)	PVLDEFRELLYEXLEALKQKLK	12%	27	78	33	66
71	(SEQ ID NO: 71)	PVLDEFREKLNELXEALKQKLK	11%				
72	(SEQ ID NO: 72)	PVLDLFRELLNEXLWALKQKLK	11%	SP	sp	sp	
73	(SEQ ID NO: 73)	PVLDEFWEKLNEXLEALKQKLK	10%				
74	(SEQ ID NO: 74)	PVLDKFREKLNEXLEALKQKLK	10%				
75 ¹⁾	(SEQ ID NO: 75)	PVLDEFREKLNEELEALKQKLK	10%	18	28	23	55
76	(SEQ ID NO: 76)	PVLDEFRELLFEXLEALKQKLK	9%	41	88		66
77	(SEQ ID NO: 77)	PVLDEFREKLNKXLEALKQKLK	9%				
78	(SEQ ID NO: 78)	PVLDEFRDKLNEXLEALKQKLK					
79	(SEQ ID NO: 79)	PVLDEFRELLNELLEALKQKLK	9%				
80	(SEQ ID NO: 80)	PVLDLFRLLNELLEALKQKLK	9%				
81	(SEQ ID NO: 81)	PVLDEFREKLNWXLEALKQKLK					
82	(SEQ ID NO: 82)	—LDEFREKXNEXLEALKQKLK	8%				
83	(SEQ ID NO: 83)	PVLDEFREKLNEXLEALWQKLK					
84	(SEQ ID NO: 84)	PVLDEPREKLNELLEALKQKLK	7%				
85	(SEQ ID NO: 85)	P-LDLFRELLNELLEALKQKLK	7%	58	61	64	69
86	(SEQ ID NO: 86)	PVLELFRLLDELLNALQKLK	7%				
87	(SEQ ID NO: 87)	pllelkellqellealkqklk	7%	100	100		100
88	(SEQ ID NO: 88)	PVLDKFRELLNEXLEALKQKLK	7%				
89	(SEQ ID NO: 89)	PVLDEFREKLNEXLWALKQKLK	6%				
90	(SEQ ID NO: 90)	- --DEFREKLNEXLEALKQKLK	6%				
91	(SEQ ID NO: 91)	PVLDEFRELLNEXLEALKQKLK	6%	43	100		100
92	(SEQ ID NO: 92)	PVLDEFRELYNEXLEALKQKLK	5%				
93	(SEQ ID NO: 93)	PVLDEFREKLNEXLKALKQKLK	5%				

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

942)	(SEQ ID NO: 94)	PVLDEFREKLNEALEALKQKLIK	5%	18	70	27	63
95	(SEQ ID NO: 95)	PVLDLFRELLNLXLEALKQKLIK	5%		sp	sp	
96	(SEQ ID NO: 96)	pvlldfrellneXlealkqklik	5%	52	85	63	81
97	(SEQ ID NO: 97)	PVLDLFRELLNELLE~~~~~	4%				
98	(SEQ ID NO: 98)	PVLDLFRELLNEELEALKQKLIK	2%				
99	(SEQ ID NO: 99)	KLKQKLAELLENLLERPLDLVP	2%	72	88	80	80
100	(SEQ ID NO: 100)	Pvlldfrellnellealkqklik	2%	83	92		98
101	(SEQ ID NO: 101)	PVLDLFRELLNWLEALKQKLIK	2%		sp	sp	
102	(SEQ ID NO: 102)	PVLDPRELLNLXLEALKEKLIK	2%	SP			
103	(SEQ ID NO: 103)	PVLDEFRELLNEELEALKQKLIK	1%				
104	(SEQ ID NO: 104)	P~~~~~LLNELLEALKQKLIK	1%	21	49	29	55
105	(SEQ ID NO: 105)	PAADAFREAAEAAEAAKQKAK	1%	29	28	32	65
106	(SEQ ID NO: 106)	PVLDLFREKLNEELEALKQKLIK	0%				
107	(SEQ ID NO: 107)	kikqklaellenllerfdlvp	0%	SP	sp		77
108	(SEQ ID NO: 108)	PVLDLFRWLLNEXLEALKQKLIK	0%	28	55		54
1093)"	(SEQ ID NO: 109)	PVLDEFREKLNERLEALKQKLIK	0%	19	45	23	58
110	(SEQ ID NO: 110)	PVLDEFREKLNEXXEALKQKLIK	0%				
111	(SEQ ID NO: 111)	PVLDEPREKLWEXWEALKQKLK	0%				
112	(SEQ ID NO: 112)	PVLDEFREKLNEXSEALKQKLIK	0%				
113	(SEQ ID NO: 113)	PVLDEFREKLNEPLEALKQKLIK	0%	6	22		
114	(SEQ ID NO: 114)	PVLDEFREKLNEXMEALKQKLIK	0%				
115	(SEQ ID NO: 115)	PKLDEPREKLNEXLEALKQKLIK	0%				
116	(SEQ ID NO: 116)	PHLDEFREKLNEXLEALKQKLIK	0%				
117	(SEQ ID NO: 117)	PELDEFREKLNEXLEALKQKLIK	0%				
118	(SEQ ID NO: 118)	PVLDEFREKLNEXLEALEQKLIK	0%				
119	(SEQ ID NO: 119)	PVLDEFREKLNEELEAXKQKLIK	0%				
120	(SEQ ID NO: 120)	PVLDEFREKLNEELEXLKQKLIK	0%				
121	(SEQ ID NO: 121)	PVLDEFREKLNEELEALWQKLIK	0%				
122	(SEQ ID NO: 122)	PVLDEFREKLNEELEWLKQKLIK	0%				
123	(SEQ ID NO: 123)	QVLDLFRELLNELLEALKQKLIK					
124	(SEQ ID NO: 124)	PVLDLFOELLNELLEALOQOLO					
125	(SEQ ID NO: 125)	NVLDLFRELLNELLEALKQKLIK					
126	(SEQ ID NO: 126)	PVLDLFRELLNELGEALKQKLIK					
127	(SEQ ID NO: 127)	PVLDLFRELLMELLELLKQKLIK	47%				
128	(SEQ ID NO: 128)	PVLDLFRELLNELLEFLKQKLIK					
129	(SEQ ID NO: 129)	PVLELFNDLLRELLEALQKLIK					

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

130	(SEQ ID NO: 130)	PVLELFNDLLRELLEALKQKLIK					
131	(SEQ ID NO: 131)	PVLELFKELLMELLDALRQKLIK					
132	(SEQ ID NO: 132)	PVLDLPRELLNLEALQKLIK					
133	(SEQ ID NO: 133)	PVLELFFERLLEDLLQALNKKLIK					
134	(SEQ ID NO: 134)	PVLELFFERLLEDLLKALMQKLIK					
135	(SEQ ID NO: 135)	DVLDLFRELLMELLEALKQKLIK					
136	(SEQ ID NO: 136)	PALELFKDLLQELLEALKQKLIK					
137	(SEQ ID NO: 137)	PVLDLFRELLNEGLEAZKQKLIK					
138	(SEQ ID NO: 138)	PVLDLFRELLNEGLEWLKQKLIK					
139	(SEQ ID NO: 139)	PVLDLFRELWNEGLEALKQKLIK					
140	(SEQ ID NO: 140)	PVLDLFRELLNEGLEALOQOLO					
141	(SEQ ID NO: 141)	PVLDFFRELLNEGLEALKQKLIK					
142	(SEQ ID NO: 142)	PVLELFFRELLNEGLEALKQKLIK					
143	(SEQ ID NO: 143)	PVLDLFRELLNEGLEALKQKLIK*					
144	(SEQ ID NO: 144)	pVLELFENLLERLLDALQKLIK	111%	89	88		95
145	(SEQ ID NO: 145)	GVLELFENLLERLLDALQKLIK	100%	55	51		58
146	(SEQ ID NO: 146)	PVLELFENLLERLLDALQKLIK	86%	97	100	100	95
147	(SEQ ID NO: 147)	PVLELFENLLERLFDALQKLIK	76%				
148	(SEQ ID NO: 148)	PVLELFENLLERLGDALQKLIK	75%	10	76	23	80
149	(SEQ ID NO: 149)	PVLELFENLWERLLDALQKLIK	63%	28	54		47
150	(SEQ ID NO: 150)	PLLELFENLLERLLDALQKLIK	57%				
151	(SEQ ID NO: 151)	PVLELFENLQERLLDALQKLIK	55%				
152	(SEQ ID NO: 152)	PVPELFENLLERLLDALQKLIK	50%				
153	(SEQ ID NO: 153)	AVLELFENLLERLLDALQKLIK	49%				
154	(SEQ ID NO: 154)	PVLELFENLLERGLDALQKLIK	39%	13	76	25	80
155	(SEQ ID NO: 155)	PVLELFLNLWERLLDALQKLIK	38%				
156	(SEQ ID NO: 156)	PVLELPLNLLERLLDALQKLIK	35%				
157	(SEQ ID NO: 157)	PVLEFFENLLERLLDALQKLIK	30%				
158	(SEQ ID NO: 158)	PVLELFLNLLERLLDWLQICKLIK	30%				
159	(SEQ ID NO: 159)	PVLDLFENLLERLLDALQKLIK	28%				
160	(SEQ ID NO: 160)	PVLELFENLLERLLDWLQICKLIK	28%	65	73	75	61
161	(SEQ ID NO: 161)	PVLELFENLLERLLEALQKLIK	27%				
162	(SEQ ID NO: 162)	PVLELFENWLERLLDALQKLIK	27%	68	83	81	
163	(SEQ ID NO: 163)	PVLELFENLLERLWDALQKLIK	26%	27	53		55
164	(SEQ ID NO: 164)	PVLELFENLLERLLDAWQKLIK	24%	37	66	51	61
165	(SEQ ID MO: 165)	PVLELPENLLERLLDLLQKLIK	23%				

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

166	(SEQ ID NO: 166)	PVLELFLNLEKLLDALQKKLK	22%				
167	(SEQ ID NO: 167)	PVLELFENGLERLLDALQKKLK	18%				
168	(SEQ ID NO: 168)	PVLELFEQLEKLLDALQKKLK	17%				
169	(SEQ ID NO: 169)	PVLELFENLEKLLDALQKKLK	17%				
170	(SEQ ID NO: 170)	PVLELFENLLEOLLDALQOOLO	17%				
171	(SEQ ID NO: 171)	PVLELFENLEKLLDLLQKKLK	16%				
172	(SEQ ID NO: 172)	PVLELFLNLLERLGDALQKKLK	16%				
173	(SEQ ID NO: 173)	PVLDLFDNLLDRLLDLLNKKLK	15%				
174	(SEQ ID NO: 174)	pvlelfenllerlldalqkkik	13%				
175	(SEQ ID NO: 175)	PVLELFENLLERLLELLNKKLK	13%				
176	(SEQ ID NO: 176)	PVLELWENLLERLLDALQKKLK	11%				
177	(SEQ ID NO: 177)	GVLELFLNLLERLLDALQKKLK	10%				
178	(SEQ ID NO: 178)	PVLELFDNLEKLLLEALQKKLR	9%				
179	(SEQ ID NO: 179)	PVLELFDNLLERLLDALQKKLK	8%				
180	(SEQ ID NO: 180)	PVLELFDNLLDKLLDALQKKLR	8%				
181	(SEQ ID NO: 181)	PVLELFENLLERWLDALQKKLK	8%				
182	(SEQ ID NO: 182)	PVLELFEMLLEKLLLEALQKKLK	7%				
183	(SEQ ID NO: 183)	PLLELFENLEKLLDALQKKLK	6%				
184	(SEQ ID NO: 184)	PVLELFLNLLERLLDAWQKKLK	4%				
185	(SEQ ID NO: 185)	PVLELFENLLERLLDALQOOLO	3%				
186	(SEQ ID NO: 186)	PVLELFEQLLERLLDALQKKLK					
187	(SEQ ID NO: 187)	PVLELFENLLERLLDALNKKLK					
188	(SEQ ID NO: 188)	PVLELFENLLDRLLDALQKKLK					
189	(SEQ ID NO: 189)	DVLELFENLLERLLDALQKKLK					
190	(SEQ ID NO: 190)	PVLEFWDNLLDKLLDALQKKLR					
191	(SEQ ID NO: 191)	PVLDLLRELLEELKQK*KLK*	100%				
192	(SEQ ID NO: 192)	PVLDLFKELLEELKQK*KLK*	100%	36			56
193	(SEQ ID NO: 193)	PVLDLFRELLEELKQK*KLK*	96%	34	88	87	87
194	(SEQ ID NO: 194)	PVLELFRELLEELKQK*KLK*	88%	38	93		93
195	(SEQ ID NO: 195)	PVI.ELFKELLEELKQK*KLK*	87%				
196	(SEQ ID NO: 196)	PVLDLPRELLEELKNK*KLK*	81%				
197	(SEQ ID NO: 197)	^LLDLFRELLEELKQK*KLK*	81%	43	70		69
198	(SEQ ID NO: 198)	GVLDLPRELLEELKQK*KLK*	80%				
199	(SEQ ID NO: 199)	PVLDLFRWLWEEKQK*KLK*	76%	35	77	80	79
200	(SEQ ID NO: 200)	NVLDLFRELLEELKQK*KLK*	75%				
201	(SEQ ID NO: 201)	PLLDLFKELLEELKQK*KLK*	74%				

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

202	(SEQ ID NO: 202)	PALELFKDLLEELRQKLR*	70%				
203	(SEQ ID NO: 203)	AVLDLFRELLEELKQKLK*	66%				
204	(SEQ ID NO: 204)	PVLDFFRELLEELKQKLK*	63%				
205	(SEQ ID NO: 205)	PVLDLFREWLEELKQKLK*	60%				
206	(SEQ ID NO: 206)	PLLELLKELLEELKQKLK*	57%				
207	(SEQ ID NO: 207)	PVLELLKELLEELKQKLK*	50%				
208	(SEQ ID NO: 208)	PALELPKDLLEELRQRLK*	48%				
209	(SEQ ID NO: 209)	PVLDLPRELLNELLQKLK	47%	54	71	67	62
210	(SEQ ID NO: 210)	PVLDLFRELLEELKQKLK	46%	20	63	37	53
211	(SEQ ID NO: 211)	PVLDLFRELLEELOQOLO*	45%				
212	(SEQ ID NO: 212)	PVLDLFOELLEELOQOLK*	43%				
213	(SEQ ID NO: 213)	PALELFKDLLEEFRQRLK*	42%				
214	(SEQ ID NO: 214)	PVLDLFRELLEELKQKLK*	39%				*
215	(SEQ ID NO: 215)	PVLDLFRELLEEWKQKLK*	38%	28	63	53	68
216	(SEQ ID NO: 216)	PVLELFKELLEELKQKLK	35%				
217	(SEQ ID NO: 217)	PVLDLFRELLELLKQKLK	30%	52	78	76	70
218	(SEQ ID NO: 218)	PVLDLFRELLNELLQKLK*	29%				
219	(SEQ ID NO: 219)	PVLDLFRELLMELWQKLK	24%				
220	(SEQ ID NO: 220)	PVLDLFRELLEELKQKLK	22%	27	64	54	64
221	(SEQ ID NO: 221)	DVLDLPRELLEELKQKLK*	12%				
222	(SEQ ID NO: 222)	PVLDAPRELLEALLQLKK	8%				
223	(SEQ ID NO: 223)	PVLDAPRELLEALAQLKK	8%	21	56	23	51
224	(SEQ ID NO: 224)	PVLDLFREGWEELKQKLK	8%				
225	(SEQ ID NO: 225)	PVLDARELAELAQLKK	1%				
226	(SEQ ID NO: 226)	PVLDAPRELGEALLQLKK	1%				
227	(SEQ ID NO: 227)	PVLDLFRELGEELKQKLK*	0%				
228	(SEQ ID NO: 228)	PVLDLPREGLEELKQKLK*	0%				
229	(SEQ ID NO: 229)	PVLDLPRELLEEGKQKLK*	0%				
230	(SEQ ID NO: 230)	PVLELPERLLEDLQKKLK					
231	(SEQ ID NO: 231)	PVLDLPRELLEKLEQKLK					
232	(SEQ ID NO: 232)	PLLELPKELLEELKQKLK*					
237 ⁴⁾	(SEQ ID NO: 237)	LDDLLQKWAEAPNQLKK	11%	30	66	45	-
238 ⁵⁾	(SEQ ID NO: 238)	EWLKAFYEKVKLEKLKELF*	19%	49	72	60	58
239 ⁶⁾	(SEQ ID NO: 239)	E WLEAF YKKVLEKLKELF*	11%	44	49		sp
240	(SEQ ID NO: 240)	DWLKAFYDKVAEKLKEAF*	10%	16	68	59	57
241	(SEQ ID NO: 241)	DWFKAFYDKVFEKFKEPF,	8%				

242 ⁷⁾	(SEQ ID NO: 242)	GIKKFLGSIWKFIKAFVG	7%				
243	(SEQ ID NO: 243)	DWPKAFYDKVAEKFEAF	5%	10	64	50	
244 ⁸⁾	(SEQ ID NO: 244)	DWLKAFYDKVAEKLKEAP	5%	9	40	13	48
245	(SEQ ID NO: 245)	DWLKAFYDKVFEKFKEPF	4%	38	77	70	SP
246 ⁹⁾	(SEQ ID NO: 246)	EWLEAFYKKVLEKLKELF	4%	18	44	47	
247	(SEQ ID NO: 247)	DWPKAFYDKPFEKFKEPF	3%				
248 ¹⁰⁾	(SEQ ID NO: 248)	EWLKAIFYEKVLEKLKELP	3%	18	45	13	
249 ¹¹⁾	(SEQ ID NO: 249)	EWLKAIEYKVEEKLKELP*					
250 ¹²⁾	(SEQ ID NO: 250)	EWLKAIEYKVEEKLKELF*					
251 ¹³⁾	(SEQ ID NO: 251)	EWLKAIFYKKVLEKLKELF*					
252	(SEQ ID NO: 252)	PVLDFRELLEQKLK*					
253	(SEQ ID NO: 253)	PVLDFRELLEELKQK*					
254	(SEQ ID NO: 254)	PVLDFRELLEKLKQK*					
255	(SEQ ID NO: 255)	PVLDFRELLEKLQK*					
256	(SEQ ID NO: 256)	PVLDFRELLEALKQK*					
257	(SEQ ID NO: 257)	PVLDFEMLLERLKQK*					
258	(SEQ ID NO: 258)	PVLDFRELLNELKQK*					
1) консенсусний 22-мірний пептид Segrest(Anantharamaiah et al., 1990, Arteriosclerosis, 19, 95-105) 2) [A¹³]-консенсусний 22-мірний пептид (Anantharamaiah et al., 1990, Arteriosclerosis, 19, 95-105) 3)[R¹³]-консенсусний 22-мірний пептид (Anantharamaiah et al., 1990, Arteriosclerosis, 19, 95-105) 4) пептид ID-3 (Labeur et al., 1997, Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biol., 17, 580-588). 5) пептид AC-18AMOD-C(O)NH₂ (Erand et al., 1987, J.Biol. Chem., 262, 9389-9396). 6) пептид AC-18AM4-C(O)NH₂ (Brasseur, 1993, Biochim. Biophys. Acta, 170, 1-7). 7) пептид 18L (Segrest et al., 1990, Proteins: Structure, Function & Genet., 8, 103-117) 8) пептид 18A (Anantharamaiah et al., 1985, J.Biol. Chem., 260, 10248-10255). 9) пептид 18AM4 (Rosseneu et al., WO 93/25581 Corijn et al., 1993, Biochim. Biophys. Acta, 1170:8-16). 10) пептид [Glu^{1,8}; Leu^{5,11,17}] (Erand et al., 1987, J.Biol. Chem., 262, 9389-9396). 11) AC-18AM3-C(O)NH₂ Rosseneu et al., заявка WO 93/2581). 12) AC-18AM2-C(O)NH₂ Rosseneu et al., заявка WO 93/2581). 13) AC-18AM3-C(O)NH₂ Rosseneu et al./ заявка WO 93/2581).							

У табл.10 значок "*" означає пептиди, які ацетильовані по N-кінцю і амідовані по C-кінцю; значок "↑" означає пептиди, дансильовані по N-кінцю; значок "sp" означає пептиди, в яких є проблеми з розчинністю в прийнятих умовах експерименту; X=Aib; Z=NaI; O=Orn; He (%) означає % спіральності; значок "~" означає делетовані амінокислоти.

9. Приклад: фармакокінетика агоністів ApoA-I

Наступні експерименти показують, що агоністи ApoA-I стабільні в кровотоці і асоціюються з HDL-компонентом в плазмі крові.

Зокрема, радіоактивно помічений пептид 4, що був ін'єктований внутрішньочеревно мишам, асоціювався з HDL-компонентом і залишався стабільним принаймні протягом 6 годин. У разі додавання до плазми крові людини (ex vivo) пептид 4 також асоціювався з HDL-компонентом.

9.1. Синтез радіоактивно помічених пептидів

Радіоактивно помічені пептиди 4 (SEQ ID NO 4) і 8 (SEQ ID NO 8) синтезували шляхом поєднання ¹⁴C-поміченого Fmoc-проліну в якості N-кінцевої амінокислоти.

L-[U-¹⁴C]- пролін (специфічна активність 9,25ГБк/ммоль) використали в синтезі поміченого захищеного Fmoc-L-проліна. Синтез здійснювали у відповідності з Lapatsanis, 1983, Synthesis, 671-673. Коротко, 250мкМ (29,6мг) непоміченого L-проліну розчиняли в 225мкл 9% розчину Na₂CO₃ і додавали до розчину (9% Na₂CO₃) 9,25МБк (250мкМ) ¹⁴C-поміченого L-проліну. Реакційний розчин охолоджували до 0°C, змішували з 600мкМ (202мг) 9-флуоренілметіл-N-сукцинимідилкарбоната (Fmoc-OSu) в 0,75мл DMF і перемішували при кімнатній температурі протягом 4 годин. Після цього реакційну суміш екстрагували діетиловим ефіром (2 x5мл) і хлороформом (1x5мл), водну фазу, що залишилася підкисляли 30%-ю соляною кислотою і екстрагували

хлороформом (5×8мл). Органічну фазу висушували над Na₂SO₄, відфільтровували і об'єм зменшували в потоці азоту до 5мл. Чистоту оцінювали методом тонкошарової хроматографії (елюент CHCl₃:MeOH:Нас - 9:1:0,1: о/о; стаціонарна фаза - силікагель-60 для ВЕРХ: Merck, Німеччина): був виявлений єдиний пік (УФ-детекція, радіохімічна чистота: Linear Analyzer, Berthold, Німеччина); вихід реакції становив 90% (визначений за допомогою LSC-рідина-тверда хроматографія).

Розчин хлороформу, що містить ¹⁴C-Фмос-пролін, використовували напряму для пептидного синтезу. Комплекс пептиду і полімеру, що містить амінокислоти 2-22, синтезований в автоматичному режимі відповідно до описаного в розділі 6, використовували для даного синтезу. Амінокислотну послідовність пептиду визначали із застосуванням методу деградації по Едману. Реакцію поєднання проводили відповідно до описаного в розділі 6.1 (неавтоматичне поєднання Фмос-Nal), за винятком того, що замість TBUT використовували 0-(7-азабензотриазол-1-ила)-1,1,3,3-тетраметилуронійгексафторфосфат (НАШ). Другу реакцію поєднання з непоміченим Фмос-L-проліном проводили не автоматично відповідно до описаного в розділі 6.1. Відщеплення пептиду і зняття захисту виконували так само, як описано в розділі 6.4. Показники специфічної активності помічених пептидів були такими:

пептид 4 (SEQ ID NO 4) = 3,9×10⁵ розпадів/хв. на 1мг

пептид 8 (SEQ ID NO 8)=1,0×10⁵ розпадів/хв. на 1мг

9.2. Фармакокінетика у мишей

У кожному експерименті 2,5мг/кг радіоактивно поміченого пептиду ін'єктували внутрішньочеревно мишам, яких вигодовували звичайним для них кормом або ж атерогенним модифікованим за Томасом-Харкрофтом раціоном (внаслідок чого спостерігається різке підвищення рівнів VLDL і IDL). Проби крові брали з різночасовими інтервалами з метою оцінки радіоактивності плазми. Отримані результати підсумовані нижче в табл.11.

Таблиця 11		
Час півжиття пептиду 4 (SEQ ID NO 4) у мишей		
Група	Препарат	Час напівжиття (години)
C57BL/6 (нормальний раціон)	пептид 4/ФСБ	5,72 ¹
C57BL/6 (раціон з високим вмістом жирів)	пептид 4/ФСБ	5,98 ²
	пептид 4/ПОРС-комплекс ³	6,39 ⁴
АроЕ-6	Пептид 4/ФСБ	14,2 ⁵
¹) Максимальна концентрація в сироватці становила 25,7% ін'єктованих імп./хв. через 1,9 годин після ін'єкції. R ² =0,960 ²) Максимальна концентрація в сироватці становила 20,3% ін'єктованих імп./хв. через 2,98 годин після ін'єкції. r ² =0,973 ³) Комплекси, що складаються з фосфоліпіду (ПОРС) і пептиду 4, отримували за допомогою методу холатного діалізу ⁴) Максимальна концентрація в сироватці становила 39,4% ін'єктованих імп./хв через 4,2 годин після ін'єкції. r ² =0,893 ⁵) Максимальна, концентрація в сироватці становила 17,4% ін'єктованих імп./хв через 1,46 годин після ін'єкції. r ² =0,973 ⁶) "Безаполіпропротеїновий-Е удар"		

9.3. Стабільність в сироватці людини

9.3.1. Експериментальні методи

100мкг ¹⁴C-поміченого пептиду 4 (SEQ ID NO 4), отриманого відповідно до описаного вище в розділі 9.1, змішували з 2мл свіжої пробі плазми людини (при 37°C) і знежирювали або негайно (контроль), або через 8 днів інкубації при 37°C (зразок, що тестується). Знежирення проводили шляхом екстракції ліпідів рівним об'ємом суміші хлороформу і метанолу (2:1, о/о).

Зразки завантажували на колонку C18 в ВЕРХ із зверненою фазою і елюювали в лінійному градієнті (25-58% протягом 33 хвилин) ацетонітрилу (утримуючого 0,1% TFA). Елюційні профілі потім аналізували на поглинання при 220нм і радіоактивність.

9.3.2. Результати

Контрольний зразок елюювався у вигляді єдиного піка, що характеризується часом утримання приблизно 30 хвилин. Вся елюйована радіоактивність доводилася на цей пік.

Зразок, що тестується елюювався у вигляді двох піків один з них характеризувався часом утримання 3 хвилини, а інший - часом утримання приблизно 30 хвилин. 3-хвилинний пік (зруйнований білок), кількісно становив приблизно 15% загальної радіоактивності, завантаженої на колонку. Інша радіоактивність елюювалася в 30-хвилинний пік (інтактний пептид): це вказує на те, що пептид 4 (SEQ ID NO 4) характеризується виключно високою стабільністю в сироватці людини - більш ніж 80% пептиду 4 залишаються непошкодженими навіть через 8 днів інкубації в сироватці людини.

9.4. Утворення пре-В-подібних часток

9.4.1. Експериментальний метод

Частки HDL людини виділяли шляхом ультрацентрифугування в градієнті щільності броміду калію при щільності 1,21г/мл з отриманням топ-фракції з подальшою гель-фільтрацією на Superose-6, що дозволяє відділити HDL від інших ліпопротеїнів. Виділені HDL доводили до кінцевої концентрації 1,0мг/мл в фізіологічному розчині: для визначення змісту білка використали тест Бредфорда. Аліквоту 300мкл відбирали з виділеного препарату HDL і інкубували її разом з 100мкл ¹⁴C-поміченого пептиду 4 (SEQ ID NO 4) (0,2-1,0мг/мкл) протягом 2 годин при 37°C. Аналізували п'ять різних варіантів інкубації, одна з яких була "пустишкою" (включала 100мкл фізіологічного розчину), а інші представляли різне розведення ¹⁴C-поміченого

пептиду 4: (1) 0,20мкг/мкл пептиду:HDL при співвідношенні 1:15; (2) 0,30мкг/мкл пептиду:HDL при співвідношенні 1:10; (3) 0,60мкг/мкл пептиду:HDL при співвідношенні 1:5; (4) 1,00мкг/мкл пептиду:HDL при співвідношенні 1:3. Після 2-часової інкубації 200-мкл аліквоту зразка (загальний об'єм 400мкл) завантажували на фільтраційну колонку з Superose-6 для розділення ліпопротеїнів і їх аналізу, а 100мкл зразки використали для визначення загальної завантаженої радіоактивності. Умови для всіх етапів рідинної хроматографії відповідають тому, що описано тут в розділі 9.4.

9.4.2. Результати

Отримані результати представлені в табл.12 і на Фіг.9А-9F.

Таблиця 12								
Заміщення АроА-I людини з відокремлених HDL людини ¹⁴ C-поміченим пептидом 4 (SEQ ID NO 4)								
		Пік №1		Пік №2	Пік №3	¹⁴ C, завантажено (імпл/хв)	¹⁴ C, колонка (імпл/хв)	Вихід (%)
		1a	1b					
П/ЛП=1:15; контроль пептид	EV	30,5						
	AUC	9.95						
	EV	29,4	30,9					
	AUC	4,09	6,26					
	¹⁴ C	7,920						
П/ЛП=1:10; контроль пептид	EV	30.7			1.622	10.361	9.542	92.1
	AUC	9,15						
	EV	30,7		33,0				
	AUC	8.42		0.67				
	¹⁴ C	N/A			N/A	N/A	N/A	N/A
П/ЛП=1:5; контроль пептид	EV	30,9						
	AUC	9,87						
	EV	30.8		34,3				
	AUC	8,19		1,53				
	¹⁴ C	20,768			5,281	28,794	26,049	90,5
П/ЛП=1:3; контроль пептид	EV	30,5						
	AUC	10.22						
	EV	30,6		34,3				
	AUC	7,93		1,97				
	¹⁴ C	43,495			7,832	54,593	51,321	94
П/ЛП - відношення маси (мкг) пептиду і ліпопротеїна; EV - елюційний об'єм (мл); AUC - площа під кривою (програма Peakfit); ¹⁴ C - величину імпл/хв визначали при радіометрії; Пік №1 - фракції 29-33; Пік №2 - фракції 34-35; Пік №3 - фракції 41-47								

З даних, представлених в табл.12 ясно, що більше за 90% загальної радіоактивності вдається виділити з колонки після розділення ліпопротеїнових часток. При низькій концентрації пептиду (тобто при ваговому співвідношенні "пептид/HDL" 1:15) пік HDL розпадається на окремі піки (Фіг.9А): це підтверджує, що взаємодія між пептидом і HDL має місце і зумовлює певну перебудову структури ліпопротеїнової частки - однак оскільки зміщений пік не виявляється, то така взаємодія не виявляється досить істотною для того, щоб витіснити нативний АроА-I. При збільшенні концентрації пептиду було відмічено витіснення АроА-I, рівень якого зростав паралельно збільшенню концентрації пептиду (9В-9D). Крім того, всі хроматографічні варіанти показали наявність третього піка, що виявляється при радіометричному аналізі (за винятком варіанту з ваговим співвідношенням 1:10, в якому отримані результати не показані), який відповідає елюційному об'єму вільного пептиду (Фіг.9Е).

Для подальшого аналізу впливу концентрації пептиду на взаємодію Непоміченого пептиду 4 і HDL інтегрований графік, показаний на Фіг.9F, був побудований на основі хроматографічних графіків, показаних на Фіг.9А-9D. Об'єднаний графік показує наявність зсуву піка HDL, а також збільшення витіснення АроА-I паралельно збільшенню концентрації пептиду. Витіснення АроА-I зумовлює утворення пре-В-подібних часток.

9.5. Скріплення пептиду 4 з ліпопротеїнами людини

9.5.1. Експериментальні методи

Скріплення пептиду 4 (SEQ ID NO 4) з фракціями ліпопротеїнів людини визначали шляхом інкубування ¹⁴С-поміченого пептиду 4 (SEQ ID NO 4) з кожним з типів ліпопротеїнів (HDL, LDL і VLDL) і сумішшю різних типів ліпопротеїнів.

Фракції HDL, LDL і VLDL були виділені із застосуванням методу ультрацентрифугування в градієнті щільності броміду калію при d=1, 21г/мл і очищали методом рідинної хроматографії на колонках Superose 6В для гель-фільтрації (хроматографію здійснювали при швидкості потоку 0,7мл/хв і з буфером, що містить 10мМ Tris [рН 8], 115мМ NaCl, 2мМ EDTA і 0,01% NaN₃). ¹⁴С-помічений пептид 4 інкубували разом з HDL, LDL і VLDL при

співвідношенні "пептид/фосфоліпід" 1:5 (вагове відношення) протягом 2 годин при 37°C. Необхідну (розрахункову) кількість ліпопротеїну (об'єми, необхідні для отримання виходу 1000мкг) змішували з 0,2мл базового розчину пептиду (1мг/мл) і отриманий розчин доводили для об'єму 2,2мл з використанням 0,9%-ого розчину NaCl у відповідності з табл.13.

Таблиця 13						
Приготування пептидно-ліпопротеїнових зразків						
	HDL (мл)	LDL (мл)	VLDL (мл)	0,9% NaCl (мл)	¹⁴ C-помічений пептид 4 (мл)	Загальний об'єм (мл)
Контроль				2,0	0,2	2,2
LP/пептид	0,4	0,3	0,9	0,4	0,2	2,2
HDL/пептид	0,4			1,6	0,2	2,2
LDL/пептид		0,6		1,7	0,2	2,2
VLDL/пептид			0,9	1,1	0,2	2,2

Після інкубації протягом 2 годин при 37°C аліквоту (0,1мл) відбирали для рідинного сцинтиляційного аналізу з метою визначення загальної радіоактивності, а щільність інкубаційної суміші, що залишилася доводили до 1,21г/мл з використанням KBr, і отримані зразки центрифугували при 100000об/хв (300000g) протягом 24 годин при 4°C в роторі TLA 100.3, встановленому в настільну ультрацентрифугу Beckman. Отриману надосадкову фракцію фракціонували на 5 фракцій шляхом відбору аліквот по 0,3мл зверху кожного зразка, і по 0,05мл кожній фракції використали для рідинного сцинтиляційного аналізу. Дві вищі фракції містять поверхневі ліпопротеїни, а інші фракції (3-5) відповідають білкам/пептидам в розчині.

9.5.2. Результати

Отримані результати представлені нижче в табл.14. Інкубація ¹⁴C-поміченого пептиду 4 з виділеними фракціями ліпопротеїнів підтвердила наявність жорсткого зв'язку з фракцією HDL (88% від загальної радіоактивності у фракціях 1 і 2), рівно як і з фракцією VLDL (85%) при істотно більш слабкому зв'язку з LDL (66%). Інкубаційна суміш, що містить всі ліпопротеїнові фракції і ¹⁴C-помічений пептид 4 (LP/пептид), показала, що 88% поміченого пептиду зв'язується з ліпопротеїновою фракцією. За допомогою рідинно-хроматографічного аналізу (FPLC) інкубаційної суміші ліпопротеїн/пептид було показано, що практично весь ¹⁴C-помічений пептид 4 зв'язувався з фракцією HDL: це вказує на високий рівень вибірковості відносно даного типу ліпопротеїнів.

Таблиця 14					
Скріплення пептиду 4 (SEQ ID NO 4) з різними ліпідами					
Фракція	Контроль	LP/пептид	HDL/пептид	LDL/пептид	VLDL пептид
1	650	60250	61510	43740	42920
2	1000	12990	17620	15140	19280
3	6590	3810	2260	11880	3930
4	36550	1510	3130	10860	2600
5	34380	5090	5450	7710	4550
Усього	79170	83650	89970	89330	73280
Усього*	88550	96646	98494	100452	97306
Вихід (%)	89	87	91	89	75
* - перед центрифугуванням					

9.6. Вибірче скріплення пептиду 4 (SEQ ID NO 4) з HDL-ліпідами плазми людини

9.6.1. Експериментальний метод

Плазму людини (2мл) інкубували разом з 20, 40, 60, 80 і 100мкг ¹⁴C-поміченого пептиду 4 протягом 2 годин при 37°C. Ліпопротеїни відділяли доведенням щільності до 1,21г/мл і центрифугуванням в роторі TLA 100.3 при 100000об/хв (300000g) протягом 36 годин при 4°C. Для аналізу відбирали верхні 900мкл (з 3 фракцій по 300мкл). По 50мкл з кожної фракції, що становила 300мкл, використали для підрахунку радіоактивності і 200мкл з кожної фракції аналізували методом рідинної хроматографії FPLC (поєднання колонок з Superose-6 і Superose-12).

9.6.2. Результати

Дані по кількості радіоактивності, виділеної з кожної фракції, представлені нижче в табл.15. Велика частина радіоактивності була виділена з трьох верхніх фракцій. Всі профілі розділення ліпопротеїнів для зразків плазми, які інкубували з C-поміченим пептидом 4 (SEQ ID NO 4) (дані в заявку не включені), показують, що в кожному випадку практично вся радіоактивність присутній у фракції HDL. Отже, хоч в сироватці кров людини присутня і інші типи ліпопротеїна, пептид 4 (SEQ ID NO 4) виявляє високий рівень вибірковості по скріпленню з HDL.

Таблиця 15				
Радіоактивність, виділена з інкубаційних сумішей непоміченого пептиду 4 з сироваткою крові людини				
Пептид	Фракція	Радіоактивність (імп/хв*)		Вихід**
(мкг)	№	в 50мкл	в 300мкл	(%)

5	20	1	1407	8442	71,6
		2	405	2430	20,6
		3	152	912	7,7
	40	1	2538	15228	70,4
		2	721	4326	20
		3	347	2082	9,6
	60	1	4492	26952	75,5
		2	1107	6642	18,6
		3	354	2124	5,9
80	1	4715	28290	60	
	2	2251	13506	28,6	
	3	851	5346	11,3	
100	1	5424	32544	67	
	2	1708	10248	21,2	
	3	907	5442	11,3	
15	* Величини для 300мл отримують, помножуючи величину для 50мл на 6				
	** На основі початкових загальних підрахунків, що використовувалися для сумішей з плазмою				

10. Приклад: прискорення виходу холестерину з клітин агоністами АроА-I

Лінію гепатомних клітин HepG2 висівали на бі-лункові культуральні планшети і вирощували до стадії злиття.

20 Клітини позначали ³H-холестерином шляхом висушування холестерину, подальшого додання 1% бичачого сироваткового альбуміну (БСА) в фосфатно-сольовому буфері (ФСБ), обробки розчину ультразвуком і додання 0,2мл поміченого розчину і 1,8мл поживних середи до клітин: в результаті кожна лунка містила 2мкКи радіоактивності. Клітини інкубували протягом 24 годин в поміченому культуральному середовищі.

25 Комплекси пептиду (або білка) з DMPC готували при співвідношенні пептиду (або білка і DMPC на рівні 1:2 (в/о). Для отримання цих комплексів пептид 4 (SEQ ID NO 4) або нативний АроА-I людини додавали до розчину DMPC в ФСБ і інкубували при кімнатній температурі протягом ночі, і протягом цього часу проводили освітлення розчину. У кінцевому розчині концентрація пептиду або білка становила 1мг/мл.

30 Помічену культуральну середу видаляли з клітин і клітини промивали фосфатно-сольовим буфером з подальшим доданням комплексів. У кожную лунку додавали по 1,6мл культуральної середи і після цього додавали комплекс пептиду (або) білка з DMPC і ту кількість ФСБ, достатню для отримання кінцевого об'єму 2мл на 1 лунку. Кінцеві концентрації пептиду або АроА-I становили 1, 2,5, 5, 7,5 і 25мкг на 1мл культуральної середи. Після 24 годин інкубації при 37°C культуральну середу видаляли і клітини промивали 2мл 1% БСА/ФСБ з подальшою 2-кратною промивкою в 2мл (кожний раз) ФСБ. Кількість ³H-холестерину, що виходить в культуральну середу, визначали шляхом рідинно-сцинтиляційного підрахунку.

35 Отримані результати показують, що пептид 4 (SEQ ID NO 4) виявляється більш ефективним відносно виходу холестерину в порівнянні з АроА-I.

11. Приклад: застосування агоністів АроА-I в системах тваринної моделі

Ефективність агоністів АроА-I по даному винаходу була показана у кроликів. Отримані результати показують, що введення агоністів АроА-I приводить до збільшення концентрації в сироватці HDL-подібних часток.

40 11.1. Приготування комплексів фосфоліпідів і пептиду Невеликі дископодібні частки, що містять фосфоліпід (DPPC) і пептид, були приготовлені із застосуванням методу холатного діалізу. Фосфоліпід розчиняли в хлороформі і висушували в потоку азоту. Пептид розчиняли в буфері (сольовому) в концентрації 1-2мг/мл. Ліпідну плівку знову розчиняли в буфері, що містить холат (43°C), і додавали розчин пептиду при ваговому відношенні фосфоліпиду і пептиду 3:1. Суміш інкубували протягом ночі при 43°C і потім діалізу вали при 43°C (24 години), при кімнатній температурі (24 години) і при 4°C (24 години) з трьома змінами буфера (великі його об'єми) в "точках" зміни температури. Комплекси стерилізували фільтруванням (0,22мкм) для подальших ін'єкцій і запасали при 4°C.

11.2. Виділення і характеристика часток пептиду/фосфоліпиду

50 Частки розділяли на колонці для гель-фільтрації (Superose 6 HR). Положення піків, що відображають присутність часток, визначали шляхом вимірювання концентрації фосфоліпідів в кожній з фракцій. По величині об'єму елюції обчислювали радіус Стокса. Концентрацію пептиду в комплексі визначали шляхом вимірювання змісту фенілаланіну (з допомогою ВЕРХ) після 16-годинного кислотного гідролізу.

11.3. Ін'єкції кроликам

55 Самцям кроликів новозеландської білої породи (вагою 2,5-3кг) внутрішньовенно ін'єктували дозу комплексу фосфоліпиду/пептиду (5 або 10мг на 1кг ваги тіла, виражено в масі пептиду) у вигляді однократної болюсної ін'єкції, що не перевищує в об'ємі 10-15 мл. Перед проведенням аналізу тварин седатували введенням слабого заспокійливого. Проби крові (що відбиралися в EDTA) отримували до і через 5, 15, 30, 60, 240 і 1440 хвилин після ін'єкції. Для кожного зразка визначали гематокрит (Het). Проби розділяли на аліквоти і запасали при -20°C для подальшого аналізу.

60 11.4. Аналіз кролячої сироватки

Плазматичні ліпіди. Загальний холестерин плазми, рівні плазматичних тригліцеридів і плазматичних фосфоліпідів визначали каталітично з використанням доступних комерційних тестів відповідно до рекомендацій їх виробників (Boehringer Mannheim, Mannheim, Німеччина і Biomerieux, F-69280, Marcy-L'etoile, Франція).

65 Склад ліпопротеїнів. Профілі плазматичних ліпопротеїнів у фракціях, отриманих після розділення зразків плазми на її ліпопротеїнові фракції, визначали шляхом центрифугування в градієнті щільності сахарози. Фракції відбирали і в кожній окремій фракції каталітичним шляхом визначали зміст фосфоліпідів і холестерину.

11.5. Результати

Склад ліпопротеїнів, виділених у кроликів, проін'єкованих 10мг/кг пептиду 4 (SEQ ID NO 4) (в формі комплексу цього пептиду з DPPC), у вигляді функції часу, показаний на Фіг.10. Істотне збільшення кількості холестерину в холестеринових фракціях HDL (фракції >1,06мг/мл) мало місце через 5 хвилин після ін'єкції і зберігалось протягом приблизно 1 години.

Холестерин об'єднаних фракцій HDL, виділених в результаті ультрацентрифугування в градієнті щільності, показаний нижче в табл.16. Найвищий рівень збільшення пов'язаного з HDL холестерину (31,3%) має місце через 15 хвилин після ін'єкції.

Таблиця 16		
Пов'язаний з HDL холестерину у кроликів після введення 10мг/кг пептиду 4 (SEQIDNO4)		
Час (хвилини)	HDL-холестерину	Зростання рівня HDL-холестерину (%)
0	325	
	408	25,2
15	428	31,3
60	387	18,9
240	291	-10,7
1440	347	6,6

Ці дані вказують на те, що введення комплексу пептиду 4 з DPPC (10мг/кг) індукує швидку і ефективну мобілізацію периферійного холестерину.

Характер залежності від дози комплексу пептиду 4 з DPPC показаний нижче в табл.17. Ґрунтуючись на даних двох моментів часу була встановлена близька до лінійної залежність від дози.

Таблиця 17			
Залежність від дози рівня пов'язаного з HDL холестерину після введення комплексу пептиду 4 з DPPC			
Доза	HDL-холестерин (5 хвилин)	HDL-холестерин (15 хвилин)	HDL-холестерин (60 хвилин)
5мг/кг	33,7	28	60
5мг/кг	49	40	20
% зростання	41,4	35,0	40,0
10мг/кг	60,7	75	121,3
10мг/кг	35	42,5	35,6
% зростання	47,9	58,8	78,5

Процент зростання пов'язаного з HDL холестерину внаслідок ін'єкції 5 мг/кг пептиду 1 (SEQ ID NO 1) (в формі комплексів пептиду з DPPC) або 10мг/кг пептиду 3 (SEQ ID NO 3) (в формі комплексів пептиду з DPPC) показаний нижче в табл.18.

Таблиця 18		
Час (хвилини)	Зростання (%) пептид 1 (5мг/кг)	Зростання (%) пептид 3 (10мг/кг)
15	24,3	84
30	95	71
60	40,7	60
240	29	14,5

Проведені експерименти продемонстрували здатність агоністів ApoA-I по даному винаходу зумовлювати зростання рівня холестерину, пов'язаного з частками HDL. Істотне збільшення HDL-холестерину спостерігається навіть через 4 години після введення пептиду 1 (SEQ ID NO 1) і пептиду 3 (SEQ ID NO 3).

12. Приклад: приготування комплексу "пептид-ліпід" за допомогою спільної ліофілізації

Для приготування пептидно-ліпідних комплексів був застосований наступний протокол.

1мг пептиду 4 (SEQ ID NO 4) розчиняли в 250мл метанолу (чистий для ВЕРХ) (Perkin Elmer) в чистій 1-мл пробірці з кришкою (Waters №WAT025054). Розчинення пептиду іноді інтенсифікували шляхом перемішування протягом 10 хвилин при кімнатній температурі. До отриманої суміші додавали аліквоту, що містить 1, 2, 3, 4, 5, 7,5, 10 або 15мг дипальмітоїлфосфатиділхолина (DPPC: Avanti Polar Lipids, чистота - 99%, № по каталогу 850355). Об'єм реакційної суміші доводили до 400мл додаванням метанолу і отриману суміш далі перемішували переривчастим чином протягом 10 хвилин при кімнатній температурі. У кожну пробірку додавали по 200мл ксилолу (Sigma-Aldrich, чистота 99%, чистий для ВЕРХ) і кожну пробірку обертали протягом 10 секунд. У верхній частині кожної пробірки проробляли два маленьких отвори, використовуючи голку №20 для шприца, потім пробірки заморожували за 15 секунд на рідкому азоті і ліофілізували протягом ночі у вакуумі. До кожної пробірки додавали по 200мл 0,9% розчини NaCl. Пробірки інтенсивно перемішували протягом 20 секунд. На цьому етапі розчини, що знаходяться в пробірках виглядали схожими на молоко. Потім пробірки інкубували на водяній бані протягом 30 хвилин при 41°C. Розчини у всіх пробірках ставали прозорими (тобто на зовнішній вигляд схожими з водою), за винятком пробірки, що містить 15мг DPPC, те, зміст якої залишався каламутним.

Наступний пропис використали для приготування комплексів "пептид-ліпід" у великих об'ємах, необхідних

для експериментів в моделях in vivo.

Пептид 4 (SEQ ID NO 4) (22,4мг) розчиняли в метанолі в концентрації 3,5мг/мл шляхом інкубації протягом декількох хвилин і перемішували шляхом переривчастого обертання. До отриманого розчину додавали дипальмітоїлфосфатиділхолін (DPPC) в метанолі (100мг/мл запасних розчини) таким чином, що кінцеве співвідношення DPPC і пептиду становило 2,5:1 (в/о). Отриманий розчин перемішували шляхом інтенсивного обертання. До цього розчину додавали ксилол до кінцевої концентрації 36%. Аліквоти отриманого внаслідок розчину відбирали для подальшого аналізу за допомогою гельфільтрації. Розчини заморожували на рідкому азоті і ліофілізували досуху у вакуумі. Аліквоту, ту, що містить 20мг пептиду і 50мг DPPC знову замочували в стерильному сольовому розчині (0,9% NaCl), змішували і нагрівали до 41°C протягом декількох хвилин до отримання прозорого розчину відновлених комплексів пептиду і фосфоліпиду.

12.1. Характеристика комплексів методом гель-фільтрації на Superose 6

Пептидно-фосфоліпідні комплекси, що містять ¹⁴C-помічений пептид 4 (SEQ ID NO 4) (специфічна радіоактивність 159000розпадів/хв на 1мг по вазі беручи до уваги 50%-ий зміст пептиду), приготували шляхом одночасної ліофілізації відповідно до описаного в даному тексті. Отримані препарати містили по вазі 1мг пептиду і 4мг DPPC. Після відновлення комплексів в 200мкл 0,9% NaCl, 20мкл (100мкг) комплексів завантажували на колонку Superose 6 (Pharmacia) з використанням 0,9%-ого розчину NaCl в якості рідкої фази при швидкості потоку 0,5мл/хв. Після 5-мл затримки (при вільному об'ємі хроматографічної колонки 7,7мл) збирали 1-мл фракції. Аліквоти, що містять 20мкл фракцій, тестували на зміст фосфоліпідів з використанням набору реактивів bioMerieux Phospholipides Enzymatique PAP 150kit (№ по каталогу 61491) відповідно до інструкцій, виданих виробником. Залишки кожної фракції обраховували протягом 3 хвилин на рідинному сцинтиляційному лічильнику Wallach-1410 (Pharmacia) з використанням програми Easy Count. У переважній більшості випадків фосфоліпід і пептид виділялися разом при піках, рівних приблизно 16мл. Профіль УФ-поглинання для даного зразка (дані в заявці не включені) вказує на те, що ці комплекси елюються з колонки при об'ємі 14,7мл. Рівень невідповідності між об'ємом елюції, розрахованим за допомогою тесту на радіоактивність і об'єм фосфоліпиду і тесту на УФ-поглинання, зумовлений наявністю "мертвого" хроматографічного об'єму, рівному 1,3мл, що знаходиться між кюветою для УФ-зчитування і місткістю колектора фракцій. Даний об'єм елюції відповідає діаметрам Стокса 114 ангстрем. Об'єми елюції на рівні приблизно 15-19мл відповідають часткам, що характеризуються діаметрами Стокса на рівні 50-120 ангстрем, що попадає в діапазон значень, характерних для розмірів часток HDL людини.

12.2. Гель-фільтрація на HDL-частки людини Superose 6

Частки HDL₂ людини готували таким чином. 300мл замороженої плазми людини (Mannheim Blutspendzentrale, № по каталогу 1185190) розтаввали, доводили до щільності 1,25 з використанням твердого бромиду калію і центрифугували протягом 45 годин при 40000об/хв з використанням бекмановської центрифуги T145 (Beckman) при 20°C. Плаваючий шар відбирали, діалізували проти дистильованої води, доводили до щільності 1,07 з використанням твердого бромиду калію і центрифугували відповідно до описаного вище протягом 70 годин. Донний шар (на рівні 1см від дна пробірки) відбирали, переносили в 0,01% азид натрію і запасали при 4°C на 4 дні з подальшою хроматографією. 20мкл HDL₂ завантажували на колонку Superose 6(Pharmacia) для гель-фільтрації з використанням 0,9% NaCl в якості елюенту. Швидкість потоку на колонці становила 0,5мл/хв. Елюент з колонки контролювали по поглинанню або розсіюванню світла при довжині хвилі 254нм. Як стандарти використали набір білків, для яких відомі молекулярна маса і діаметр Стокса, а отримані по них дані використовували для калібрування колонки з метою пристосування її для розрахунку діаметрів Стокса у часток, що досліджуються (Pharmacia Gel Filtration Calibration kit - набір реактивів з керівництвом по застосуванню; Pharmacia Laboratory Separation, Piscataway, NJ; затверджена в квітні 1985р.). Встановлено, що частки HDL, елюйовані з об'ємом втримання 14,8мл, відповідають діаметру Стокса, рівному 108нм.

13. Приклад: приготування антитіл

Пептиди 4 або 8 з'єднували з гемоцианіном слизня (KLH: 1мг пептиду і 10мг KLH). Кон'югат з KLH суспендували в повному ад'юванті Фрейнда і використали для ін'єкування кроликів в момент часу, що визначається як 0-й, а бустинг-ін'єкцію (дозою 0,25мг) проводили на 4-й тижні і ще раз на 5-й тижні. Пробі крові до ін'єкцій і через 6 тижнів після ін'єкції тестували із застосуванням методу ТИФА (твердофазний імуноферментний аналіз) на титр антитіл, специфічних відносно автентичного антигену.

Проби крові об'єднували в один пул від двох тварин. Антитіла, специфічні виключно у відношенні пептидних антигенів, виділяли таким чином:

1. Вільний пептид приєднували з активованої ціаногенбромідом Superose 4B (Pharmacia), відповідно до протоколу, запропонованого виробником.

2. Антисироватки преабсорбували на колонці зі сторонніми пептидами і на колонках зі сторонніми білками миші і людини.

3. Преабсорбовану антисироватку пропускали через відповідну колонку, на якій пов'язані пептиди (див. етап 1).

4. Колонки промивали 0,1М боратним сольовим буфером (pH=8,2) і пов'язані антитіла елюювали з використанням понижувального градієнта з pH, поетапно від pH=4,0 до pH=3,0 і до pH=2,0 (0,1М гліциновий буфер) і, нарешті, з 0,1М соляної кислоти.

5. Елюйований матеріал нейтралізували надлишком боратного сольового буфера, концентрували шляхом ультрацентрифугування (Amicon, YM30) і діалізували проти боратного сольового буфера.

6. Концентрацію білка визначали по величині поглинання при довжині хвилі 280 нм.

Отримані в результаті антитіла тестували на видоспецифічність з використанням АроА-I людини або

очищеного AроА-I миші в прямому тесті на скріплення в ТИФА. Антитіла людини і миші були специфічними відносно AроА-I людини і продемонстрували мінімальний рівень перехресної реактивності.

Даний винахід не обмежується масштабом конкретних варіантів, описаних в даному тексті, які покликані тільки проілюструвати окремі аспекти даного винаходу: відповідно, функціонально еквівалентні методи і компоненти знаходяться в об'ємі даного винаходу. Дійсно, різні модифікації даного винаходу, в доповнення до того, що було описано і показано тут, будуть ясні для фахівців в даній області техніки на основі попереднього опису і прикладених креслень. Такі модифікації повинні попасти в об'єм нижченаведеної формули винаходу.

Всі цитовані в даному тексті матеріали включені в заявку у всіх випадках для зведення лише як бібліографічні посилання.

СПИСОК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

(1) БАЗОВА ІНФОРМАЦІЯ

(i) ЗАЯВНИК: Dasseux J.-L.

Sekul R.

Buttner K.

Cornut I.

Metz G.

Dufourcq J.

(ii) НАЗВА: Агоністи аполінопротеїна А-1 і їх використання для лікування захворювань, пов'язаних з дисліпідемією

(iii) КІЛЬКІСТЬ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ: 254

(iv) АДРЕСА ДЛЯ ЛИСТУВАННЯ:

(A) АДРЕСА: Pennie & Edmonds LLP

(B) ВУЛИЦЯ: 1155 Ave. of the Americas

(C) МІСТО: New York

(D) ШТАТ: NY

(E) КРАЇНА: США

(F) ПОШТОВИЙ ІНДЕКС: 10036-2811

(N) ФОРМА, ПРИДАТНА ДЛЯ КОМП'ЮТЕРА:

(A) ТИП НОСІЯ: дискета

(B) КОМП'ЮТЕР: IBM-сумісний

(C) ОПЕРАЦІЙНА СИСТЕМА: DOS

(D) ПРОГРАМА: FastSEQ версія 2.0

(vi) ПОТОЧНІ ПАРАМЕТРИ ЗАЯВКИ:

(A) НОМЕР ЗАЯВКИ: PCT/US 98/20327

(B) ДАТА ПОДАЧІ: 28 вересня 1998р.

(C) КЛАСИФІКАЦІЯ:

(vii) ДАНІ ПРІОРИТЕТУ ЗАЯВКИ:

(A) НОМЕР ЗАЯВКИ: 08/940095

(B) ДАТА ПОДАЧІ: 29 вересня 1997р.

(viii) ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПАТЕНТНОГО ПОВІРЕНОГО:

(A) ІМ'Я: L.A.Comzzi

(B) РЕЄСТРАЦІЙНИЙ НОМЕР: 30742

(C) РЕЄСТРОВИЙ НОМЕР: 009196-0004-228

(ix) ТЕЛЕКОМУНІКАЦІЙНИЙ ІНФОРМАЦІЯ:

(A) ТЕЛЕФОН: (1-650) 493-4935

(B) ФАКС: (1-650) 493-5556

(C) ТЕЛЕКС: 66141 PENNIE

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 1:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯШІЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 16

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=нафтилаланін

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 1:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu

1 5 10 15

Xaa Leu Lys Gln Lys Leu Lys

20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 2:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

- 5 (A) ДОВЖИНА: 23 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 2:
Gly Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
- 10 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys Lys
20
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 3:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 3:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
20 1 5 10 15
Trp Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 4:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 4:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
30 1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 5:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 23 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ: (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: Інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=D-Pro
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 5:
Xaa Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
45 1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys Lys
20
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 6:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: Інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 6:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
60 1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 7:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

- 5 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
- 10 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 7:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Lys Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
- 15 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 8:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 8:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Gly Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
- 25 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 9:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 9:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Gly Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
- 30 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 9:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Gly Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
- 35 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 10:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
- 40 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 10:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'Я\КЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 17
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=нафтилаланін
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 10:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Xaa Lys Gln Lys Leu Lys
20
- 45 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 11:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 11:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Lys Glu Leu Leu Gln Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
- 50 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'Я\КЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 18
- 55 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'Я\КЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 18
- 60 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'Я\КЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 18
- 65 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'Я\КЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 18

- (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 20
 5 (C) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
 (A) ІМ'ЯМСЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 22
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 10 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 12:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 15 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 12:
 Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
 1 5 10 15
 20 Ala Gly Lys Gln Lys Leu Lys
 20
 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 13:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 25 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 13:
 30 Gly Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Gly Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20
 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 14:
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 14:
 35 Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Xaa Gln Xaa Leu Xaa
 20
 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 15:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 40 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 45 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 15:
 Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Trp Asn Glu Leu Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20
 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 16:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 50 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 55 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 16:
 Pro Val Leu Asp Leu Leu Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
 1 5 10 15
 60 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20
 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 17:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 65 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 17:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Lys Glu Leu Leu Gln Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15

5 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 18:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

10 (B) ТИП: амінокислота.

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 18:

15 Gly Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15

Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 19:

20 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

25 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=D-Pro

30 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 19:

Xaa Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Gly Leu Glu
1 5 10 15

Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 20:

35 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

40 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 20:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Gly Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15

Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 21:

45 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

50 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯШІЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=D-Pro

55 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 21:

Xaa Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15

Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 22:

60 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

65 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 22:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Gly Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 23:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 23:

Pro Leu Leu Glu Leu Phe Lys Glu Leu Leu Gln Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 24:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 24:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 25:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'Я/КЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 25:

Pro Val Leu Asp Phe Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 26:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 26:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Leu Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 27:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'Я/КЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 14
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=нафтилаланін

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 27:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Xaa Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 28:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 28:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Trp Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 29:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 29:

Ala Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 30:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1...22

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: дансильований по N-кінцю пептид

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 30:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 31:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa==Aib

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 31:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Leu Glu Leu Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 32:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(id.) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

- (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 32:
- 5 Xaa Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 33:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 33:
- 10 Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 34:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 5
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=нафтилаланін
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 34:
- 20 Pro Val Leu Asp Xaa Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 35:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 35:
- 30 Pro Val Leu Asp Trp Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 36:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 36:
- 40 Pro Val Leu Glu Leu Leu Lys Glu Leu Leu Gln Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 37:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 37:
- 50 Pro Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Leu Leu Gln Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Trp Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 5 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 38:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
10 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
15 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 38:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Trp Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 20 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 39:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
25 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 39:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Leu Lys
1 5 10 15
Ala Leu Lys Lys Lys Leu Lys
20

- 30 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 40:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
35 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 40:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Asn Glu Leu Leu Arg Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 40 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 41:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
45 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
50 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 41:

Pro Val Leu Asp Leu Trp Arg Glu Leu Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 55 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 42:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
60 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
65 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 42:

5 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Trp Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 43:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
10 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
15 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 43:

20 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Trp Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 44:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
25 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
30 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯШТЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1...22
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: всі амінокислоти, що генетично кодуються мають D-конфігурацію
35 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 44:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
40 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 45:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
45 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
50 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 45:

55 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 46:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
60 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
65 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 46:

5 Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 47:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

10 (A) ДОВЖИНА: 21 амінокислота
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

15 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 47:
Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Gly Leu Glu Ala
1 5 10 15
Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 48:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

20 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

25 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=D-Pro
30 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 2
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=D-Val
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 48:

35 Xaa Xaa Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 49:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

40 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

45 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 49:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Asn Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Glu Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 50:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

50 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

55 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
60 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 50:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Trp Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

65 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 51:

- (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 51:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Trp Glu Leu Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 52:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 52:

Pro Val Trp Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 53:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 53:

Val Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 54:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 54:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Trp Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 55:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 19 амінокислот
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 55:

Pro Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu Ala Leu Lys
 1 5 10 15
 Gln Lys Leu Lys

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 56:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

- 5 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 56:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Lys Lys
20

10

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 57:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 57:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Asn Leu Leu Glu Glu Leu Leu Lys
1 5 10 15
Ala Leu Glu Gln Lys Leu Lys
20

20

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 58:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 21 амінокислота
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'Я КЛЮЧ: Інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 58:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu
20

35

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 59:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 59:

Leu Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

40

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 60:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 19 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 60:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln
20

55

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 61:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

65

- 5 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ: (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 61:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Trp Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 10 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 62:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
15 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
20 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 62:

Pro Val Leu Asp Glu Trp Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 25 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 63:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
30 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
35 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 63:

Pro Val Leu Asp Phe Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 40 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 64:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
45 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ: (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
50 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 64:

Pro Trp Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 55 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 65:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 21 амінокислота
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
60 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 12
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
65 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 65:

Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu Ala
1 5 10 15
Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 5 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 66:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
10 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 66:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Asn Leu Leu Glu Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 15 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 67:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 21 амінокислота
(B) ТИП: амінокислота
20 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 67:

Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu Ala
1 5 10 15
Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 25 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 68:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
30 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
35 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 68:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Leu Leu Lys Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 40 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 69:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
45 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна _
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
50 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 69:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Lys Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 55 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 70:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
60 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
65 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 70:

5 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Leu Leu Tyr Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 71:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
10 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
15 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 14
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 71:

20 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Leu Xaa Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 72:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
25 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
30 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 72:

35 Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Xaa Leu Trp
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 73:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
40 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
45 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 73:

50 Pro Val Leu Asp Glu Phe Trp Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 74:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
55 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
60 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 74:

65

Pro Val Leu Asp Lys Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 5 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 75:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
10 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 75:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Glu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 15 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 76:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
20 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
25 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 76:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Leu Leu Phe Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 30 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 77:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
35 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ: (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
40 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 77:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Lys Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 45 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 78:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
50 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМЖЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
55 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 78:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Asp Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 60 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 79:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
65 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 79:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
5 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 80:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 80:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Glu Arg Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
15 Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 81:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'Я\КЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=Aib

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 81:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Trp Xaa Leu Glu
1 5 10 15
25 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 82:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 20 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'Я\КЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 11

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=Aib

(xi). ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 82:

Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu Ala Leu
1 5 10 15
40 Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 83:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМЖЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=Aib

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 83:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
55 Ala Leu Trp Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 84:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

5 (В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 84:
Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15

10 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 85:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 21 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
15 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 85:

Pro Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu Ala
1 5 10 15
20 Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 86:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
25 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 86:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Arg Leu Leu Asp Glu Leu Leu Asn
1 5 10 15
30 Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 87:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
35 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
40 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1...22
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: всі амінокислоти мають D-конфігурацію
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 87:

Pro Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Leu Leu Gln Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
45 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 88:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
50 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
55 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 88:

Pro Val Leu Asp Lys Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
60 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 89:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
65 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

- (В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
5 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=Aib
10 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 89:
Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Trp
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 90:
15 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 19 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
20 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 10
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=Aib
25 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 90:
Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu Ala Leu Lys
1 5 10 15
Gln Lys Leu Lys
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 91:
30 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
35 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯШІЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 91:
40 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 92:
45 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
50 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 92:
55 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Leu Tyr Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 93:
60 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
65 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 93:

5 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Lys
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 94:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
10 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
15 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 94:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Ala Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 95:
20 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
25 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
30 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 95:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Leu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 96:
35 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
40 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1.. 222
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: всі амінокислоти, що генетично кодуються мають D-конфігурацію
45 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 96:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 97:
55 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 15 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 97:
60 Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 98:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
65 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 98:

5 Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Glu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 99:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

10 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

15 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 99:

Lys Leu Lys Gln Lys Leu Ala Glu Leu Leu Glu Asn Leu Leu Glu
1 5 10 15
Arg Phe Leu Asp Leu Val Pro
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 100:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

20 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

25 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 22

30 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: всі амінокислоти мають D-конфігурацію
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 100:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 101:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

35 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

40 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13

45 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 101:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Trp Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 102:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

50 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

55 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13

60 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 102:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Leu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Glu Lys Leu Lys
20

65 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 103:

- (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 103:
 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Glu Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 104:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 15 амінокислот
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 104:
 Pro Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 1 5 10 15
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 105:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 105:
 Pro Ala Ala Asp Ala Phe Arg Glu Ala Ala Asn Glu Ala Ala Glu
 1 5 10 15
 Ala Ala Lys Gln Lys Ala Lys
 20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 106:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 106:
 Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Glu Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 107:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 22
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: всі амінокислоти мають D-конфігурацію
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 107:
 Lys Leu Lys Gln Lys Leu Ala Glu Leu Leu Glu Asn Leu Leu Glu
 1 5 10 15
 Arg Phe Leu Asp Leu Val Pro
 20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 108:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

- 5 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 108:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Trp Leu Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20

- 10 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 109:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 15 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 109:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Arg Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20

- 20 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 110:
 (i). ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 25 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 30 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯШІЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 14
 35 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 110:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Xaa Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20

- 40 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 111:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 45 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
 50 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 111:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Trp Glu Xaa Trp Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20

- 55 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 112:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 60 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
 65 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 112:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Ser Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

5

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 113:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 113:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Pro Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

15

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 114:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 114:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Met Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

30

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 115:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 115:

Pro Lys Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

45

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 116:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ: (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 116:

Pro His Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

60

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 117:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

65

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 5 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 117:
 Pro Glu Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
 1 5 10 15
 10 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20
 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 118:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 15 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 20 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 13
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 118:
 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Xaa Leu Glu
 1 5 10 15
 25 Ala Leu Glu Gln Lys Leu Lys
 20
 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 119:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 30 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 35 (A) ІМ'ЯШІЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 17
 (C) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 119:
 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Glu Leu Glu
 1 5 10 15
 40 Ala Xaa Lys Gln Lys Leu Lys
 20
 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 120:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 45 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 50 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 16
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Aib
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 120:
 Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Glu Leu Glu
 1 5 10 15
 55 Xaa Leu Lys Gln Lys Leu Lys
 20
 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 121:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 60 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 121:
 65

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Glu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Trp Gln Lys Leu Lys
20

- 5 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 122:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
10 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 122:

Pro Val Leu Asp Glu Phe Arg Glu Lys Leu Asn Glu Glu Leu Glu
1 5 10 15
Trp Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 15 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 123:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
20 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 123:

Gln Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 25 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 124:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
30 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
35 (A) ІМ'ЯШІЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 20
40 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 22
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 124:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Xaa Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Xaa Gln Xaa Leu Xaa
20

- 45 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 125:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
50 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
55 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 125:

Asn Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 60 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 126:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
65 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 126:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Gly Glu
1 5 10 15

5 Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 127:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 127:

15 Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Leu Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 128:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

25 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 128:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Phe Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 129:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 129:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Asn Asp Leu Leu Arg Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 130:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 130:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Asn Asp Leu Leu Arg Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 131:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 131:

60 Pro Val Leu Glu Leu Phe Lys Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Arg Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 132:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

- 5 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 132:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Asn Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 10 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 133:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
15 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 133:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Arg Leu Leu Glu Asp Leu Leu Gln
1 5 10 15
Ala Leu Asn Lys Lys Leu Lys
20

- 20 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 134:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
25 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 134:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Arg Leu Leu Glu Asp Leu Leu Lys
1 5 10 15
Ala Leu Asn Gln Lys Leu Lys
20

- 30 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 135:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
35 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 135:

Asp Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 45 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 136:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
50 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 136:

Pro Ala Leu Glu Leu Phe Lys Asp Leu Leu Gln Glu Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

- 55 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 137:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
60 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯШІЮЧ: інше
65 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 17
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Хаа=нафтилаланін

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 137:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Gly Leu Glu
1 5 10 15
Ala Xaa Lys Gln Lys Leu Lys
20

5

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 138:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

10

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 138:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Gly Leu Glu
1 5 10 15
Trp Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

15

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 139:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

20

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 139:

25

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Trp Asn Glu Gly Leu Glu
1 5 10 15

Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 140:

30

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

35

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn

40

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 20

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 22

45

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 140:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Gly Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Xaa Gln Xaa Leu Xaa
20

50

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 141:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

55

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 141:

Pro Val Leu Asp Phe Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Gly Leu Glu
1 5 10 15

60

Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 142:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

65

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 142:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Gly Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 143:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1... 22

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 143:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Gly Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Lys Gln Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 144:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=D- Pro

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 144:

Xaa Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 145:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 145:

Gly Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 146:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 146:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 147:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 147:

5 Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Phe Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 148:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
10 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

15 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 148:
Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Gly Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 149:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
20 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
25 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 149:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Trp Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 150:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
30 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
35 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 150:

Pro Leu Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 151:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
45 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 151:

50 Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Gly Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 152:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
55 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

60 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 152:
Pro Val Phe Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 153:
65 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

- 5 (В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 153:

Ala Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 10 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 154:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
15 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 154:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Gly Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 20 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 155:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
25 (С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 155:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Leu Asn Leu Trp Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 30 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 156:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
35 (С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 156:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Leu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 40 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 157:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
45 (В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
50 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 157:

Pro Val Leu Glu Phe Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 55 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 158:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
60 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 158:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Leu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Trp Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 65 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 159:

- 5 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 159:
 Pro Val Leu Asp Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
 1 5 10 15
 10 Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
 20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 160:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 160:
 20 Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
 1 5 10 15
 Trp Leu Gln Lys Lys Leu Lys
 20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 161:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 161:
 30 Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu
 1 5 10 15
 Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
 20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 162:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 162:
 40 Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Trp Leu Glu Arg Leu Leu Asp
 1 5 10 15
 Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
 20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 163:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 163:
 50 Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Trp Asp
 1 5 10 15
 55 Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
 20
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 164:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 164:
 60
 65

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Trp Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 5 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 165:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
10 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 165:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Leu Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 15 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 166:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
20 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 166:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Leu Asn Leu Leu Glu Lys Leu Leu Asp
25 1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 167:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
30 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
35 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 167:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Gly Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 40 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 168:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
45 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 168:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Gln Leu Leu Glu Lys Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 50 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 169:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
55 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 169:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Lys Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 60 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 170:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
65 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

- (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
5 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 12
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 19
10 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 20
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(A) ІМ'ЯШІЮЧ: інше
15 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 22
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 170:
Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Xaa Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Xaa Xaa Leu Xaa
20
20 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 171:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
25 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 171:
Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Lys Leu Leu Asp
1 5 10 15
Leu Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20
30 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 172:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
35 (B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 172:
40 Pro Val Leu Glu Leu Phe Leu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Gly Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 173:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
45 (A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
50 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 173:
Pro Val Leu Asp Leu Phe Asp Asn Leu Leu Asp Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Leu Leu Asn Lys Lys Leu Lys
20
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 174:
55 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
60 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ: (A)ІМ'ЯКЛЮЧ:інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 22
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: всі амінокислоти мають D-конфігурацію
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 174:
65

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 5 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 175:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
10 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 175:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu
1 5 10 15
Leu Leu Asn Lys Lys Leu Lys
20

- 15 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 176:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
20 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 176:

Pro Val Leu Glu Leu Trp Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 25 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 177:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
30 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 177:

Gly Val Leu Glu Leu Phe Leu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 35 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 178:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
40 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 178:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Asp Asn Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Arg
20

- 45 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 179:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
50 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 179:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Asp Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

- 55 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 180:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти
(B) ТИП: амінокислота
60 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
65 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 180:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Asp Asn Leu Leu Asp Lys Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Arg
20

5

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 181:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

10

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 181:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Trp Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

15

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 182:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

20

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 182:

25

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 183:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

30

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

35

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 183:

Pro Leu Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Lys Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 184:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

40

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

45

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 184:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Leu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15
Ala Trp Gln Lys Lys Leu Lys
20

50

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 185:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

55

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'Я\КЛЮЧ: інше

60

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 19

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn

(A) ІМ'Я\КЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 20

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn

65

(A) ІМ'Я\КЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 22

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 185:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15

5 Ala Leu Gln Xaa Xaa Leu Xaa
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 186:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

10 (B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 186:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Gln Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15

15 Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 187:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

20 (B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

25 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 187:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15

Ala Leu Asn Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 188:

30 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

35 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 188:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Asp Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15

Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 189:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

45 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 189:

Asp Val Leu Glu Leu Phe Glu Asn Leu Leu Glu Arg Leu Leu Asp
1 5 10 15

50 Ala Leu Gln Lys Lys Leu Lys
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 190:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 22 амінокислоти

(B) ТИП: амінокислота

55 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 190:

Pro Val Leu Glu Phe Trp Asp Asn Leu Leu Asp Lys Leu Leu Asp
1 5 10 15

60 Ala Leu Gln Lys Lys Leu Arg
20

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 191:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

65 (B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 191:

10 Pro Val Leu Asp Leu Leu Arg Glu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 192:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 192:

25 Pro Val Leu Asp Leu Phe Lys Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 193:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 193:

40 Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 194:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 194:

55 Pro Val Leu Glu Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 195:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 195:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Lys Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 196:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯШІЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 196:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Asn
1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 197:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 197:

Pro Leu Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 198:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 198:

Gly Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 199:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 199:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Trp Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 200:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

- 5 (A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
- 10 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 200:
Asn Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys
- 15 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 201:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
- 20 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
- 25 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 201:
Pro Leu Leu Asp Leu Phe Lys Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys
- 30 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 202:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ: (A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
- 35 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 202:
Pro Ala Leu Glu Leu Phe Lys Asp Leu Leu Glu Glu Leu Arg Gln
1 5 10 15
Lys Leu Arg
- 40 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 203:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
- 45 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 203:
Ala Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys
- 50 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 204:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯШЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
- 55 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 204:
Ala Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys
- 60 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 205:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯШЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
- 65 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 205:
Ala Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 204:

Pro Val Leu Asp Phe Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15

5 Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 205:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

10 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

15 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 205:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Trp Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15

20 Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 206:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

25 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

30 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 206:

Pro Leu Leu Glu Leu Leu Lys Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15

35 Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 207:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

40 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

45 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 207:

Pro Val Leu Glu Leu Leu Lys Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15

50 Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 208.:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ: (A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

55 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

60 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 208:

Pro Ala Leu Glu Leu Phe Lys Asp Leu Leu Glu Glu Leu Arg Gln
1 5 10 15

65 Arg Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 209:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

- 5 (В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 209:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys

- 10 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 210:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
15 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 210:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys

- 20 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 211:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
25 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
30 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 14
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(A) ІМ'ЯШІЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 16
35 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 211:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Xaa Gln
1 5 10 15
Xaa Leu Xaa

- 40 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 212:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
45 (В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
50 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
(A) ІМ'ЯШІЮЧ: інше
55 (В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 7
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 14
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
60 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 16
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: Xaa=Orn
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 212:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Xaa Glu Leu Leu Glu Glu Leu Xaa Gln
1 5 10 15
Xaa Leu Lys

- 65 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 213:

- (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 213:
- Pro Ala Leu Glu Leu Phe Lys Asp Leu Leu Glu Glu Phe Arg Gln
 1 5 10 15
 Arg Leu Lys
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 214:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
 (A) ІМ'ЯШГЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: 1
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: D-конфігурація Pro
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 214:
- Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
 1 5 10 15
 Lys Leu Lys
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 215:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 215:
- Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Trp Lys Gln
 1 5 10 15
 Lys Leu Lys
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 216:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 216:
- Pro Val Leu Glu Leu Phe Lys Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
 1 5 10 15
 Lys Leu Lys
- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 217:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 217:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Leu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 218:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 218:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Leu Gln

1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 219:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 219:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Asn Glu Leu Trp Gln

1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 220:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 220:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Gln Lys

1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 221:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 221:

Asp Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln

1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 222:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 222:

Pro Val Leu Asp Ala Phe Arg Glu Leu Leu Glu Ala Leu Leu Gln

1 5 10 15

Leu Lys Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 223:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

- 5 (В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 223:

Pro Val Leu Asp Ala Phe Arg Glu Leu Leu Glu Ala Leu Ala Gln
1 5 10 15
Leu Lys Lys

- 10 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 224:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
15 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 224:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Gly Trp Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15
Lys Leu Lys

- 20 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 225:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
25 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 225:

Pro Val Leu Asp Ala Phe Arg Glu Leu Ala Glu Ala Leu Ala Gln
1 5 10 15
Leu Lys Lys

- 30 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 226:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
35 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 226:

Pro Val Leu Asp Ala Phe Arg Glu Leu Gly Glu Ala Leu Leu Gln
1 5 10 15
Leu Lys Lys

- 40 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 227:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
45 (С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
50 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амидированный по C-кінцю
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 227:

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

- 55 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 228:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
60 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ: (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амидований по C-кінцю
65 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 228:

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

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 229:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'Я КЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 229:

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

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 230:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 230:

Pro Val Leu Glu Leu Phe Glu Arg Leu Leu Glu Asp Leu Gln Lys
1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 231:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 231:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Glu Gln
1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 232:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(B) ТИП: амінокислота

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(A) ІМ'Я КЛЮЧ: інше

(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 232:

Pro Leu Leu Glu Leu Phe Lys Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
1 5 10 15

Lys Leu Lys

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 233:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА:

(B) ТИП:

(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ:

(D) ТОПОЛОГІЯ:

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП:

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 233:

Ця послідовність пропущена навмисно

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 234:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(A) ДОВЖИНА:

(B) ТИП:

- (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ:
(D) ТОПОЛОГІЯ:
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП:
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 234;
Ця послідовність пропущена навмисно
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 235:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА:
(B) ТИП:
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ:
(D) ТОПОЛОГІЯ:
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП:
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 235;
Ця послідовність пропущена навмисно
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 236:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА:
(B) ТИП:
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ:
(D) ТОПОЛОГІЯ:
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП:
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 236;
Ця послідовність пропущена навмисно
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 237:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 237:
Leu Asp Asp Leu Leu Gln Lys Trp Ala Glu Ala Phe Asn Gln Leu
1 5 10 15
Leu Lys Lys
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 238:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМЖЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 238:
Glu Trp Leu Lys Ala Phe Tyr Glu Lys Val Leu Glu Lys Leu Lys
1 5 10 15
Glu Leu Phe
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 239:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(A) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(B) ТИП: амінокислота
(C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
(B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 239:
Glu Trp Leu Glu Ala Phe Tyr Lys Lys Val Leu Glu Lys Leu Lys
1 5 10 15
Glu Leu Phe
(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 240:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

- 5 (А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(ix) ВЛАСТИВОСТІ:
(А) ІМ'ЯЖЛЮЧ: інше
(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
10 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 240:

Asp Trp Leu Lys Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Leu Lys
1 5 10 15
Glu Ala Phe

- 15 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 241:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
20 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 241:

Asp Trp Phe Lys Ala Phe Tyr Asp Lys Val Phe Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Glu Phe Phe

- 25 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 242:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
30 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 242:

Gly Ile Lys Lys Phe Leu Gly Ser Ile Trp Lys Phe Ile Lys Ala
1 5 10 15
Phe Val Gly

- 35 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 243:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
40 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 243:

Asp Trp Phe Lys Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Glu Ala Phe

- 45 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 244:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
50 (С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 244:

Asp Trp Leu Lys Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Leu Lys
1 5 10 15
Glu Ala Phe

- 55 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 245:
(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
(А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот
(В) ТИП: амінокислота
60 (С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 245:

Asp Trp Leu Lys Ala Phe Tyr Asp Lys Val Phe Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Glu Phe Phe

65

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 246:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ: (А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(В) ТИП: амінокислота

(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 246:

Glu Trp Leu Glu Ala Phe Tyr Lys Lys Val Leu Glu Lys Leu Lys
1 5 10 15

Glu Leu Phe

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 247:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(В) ТИП: амінокислота

(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 247:

Asp Trp Phe Lys Ala Phe Tyr Asp Lys Phe Phe Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Glu Phe Phe

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 248:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(В) ТИП: амінокислота

(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 248:

Glu Trp Leu Lys Ala Phe Tyr Glu Lys Val Leu Glu Lys Leu Lys
1 5 10 15

Glu Leu Phe

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 249:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(В) ТИП: амінокислота

(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(А) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 249:

Glu Trp Leu Lys Ala Glu Tyr Glu Lys Val Glu Glu Lys Leu Lys

1 5 10 15

Glu Leu Phe

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 250:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ: (А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(В) ТИП: амінокислота

(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

(ix) ВЛАСТИВОСТІ:

(А) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше

(В) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18

(D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю

(xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 250:

Glu Trp Leu Lys Ala Glu Tyr Glu Lys Val Leu Glu Lys Leu Lys

1 5 10 15

Glu Leu Phe

(2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 251:

(i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:

(А) ДОВЖИНА: 18 амінокислот

(В) ТИП: амінокислота

(С) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один

(D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна

(ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає

- 5 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 18
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 251:

Glu Trp Leu Lys Ala Phe Tyr Lys Lys Val Leu Glu Lys Leu Lys
 1 5 10 15
 Glu Leu Phe

- 10 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 252:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 15 амінокислот
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 15 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 15
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
 20 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 252:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Gln Lys Leu Lys
 1 5 10 15

- 25 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 253:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 16 амінокислот
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 30 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 16
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 253:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Glu Leu Lys Gln
 35 Lys
 1 5 10 15

- 40 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 254:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 16 амінокислот
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 45 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ: (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 16
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 254:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Lys Gln
 50 1 5 10 15
 Lys

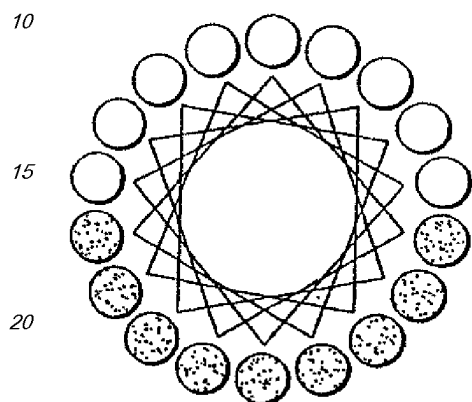
- 55 (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 255:
 (i) ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСЛІДОВНОСТІ:
 (A) ДОВЖИНА: 15 амінокислот
 (B) ТИП: амінокислота
 (C) ЧИСЛО ЛАНЦЮГІВ: один
 (D) ТОПОЛОГІЯ: лінійна
 60 (ii) МОЛЕКУЛЯРНИЙ ТИП: немає
 (ix) ВЛАСТИВОСТІ:
 (A) ІМ'ЯКЛЮЧ: інше
 (B) ЛОКАЛІЗАЦІЯ: I... 15
 (D) ІНША ІНФОРМАЦІЯ: пептид, ацетильований по N-кінцю і амідований по C-кінцю
 (xi) ОПИС ПОСЛІДОВНОСТІ: SEQ ID NO 255:

Pro Val Leu Asp Leu Phe Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Gln Lys
 65 1 5 10 15

- (2) ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ SEQ ID NO 256:

амфінатична α -спіраль

- 5
-  гідрофобний залишок
 -  гідрофільний залишок

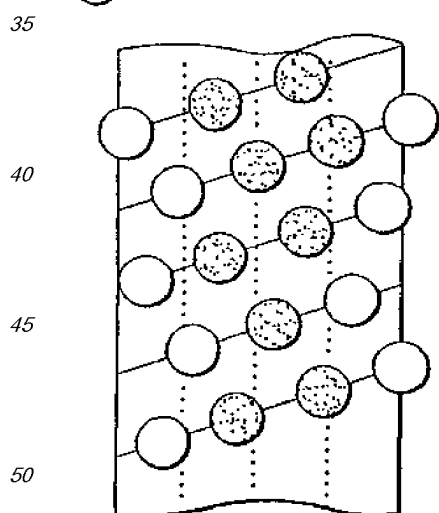


кругова схема спіралі

ФІГ. 1А

амфінатична α -спіраль

- 30
-  гідрофільний залишок
 -  гідрофільний залишок

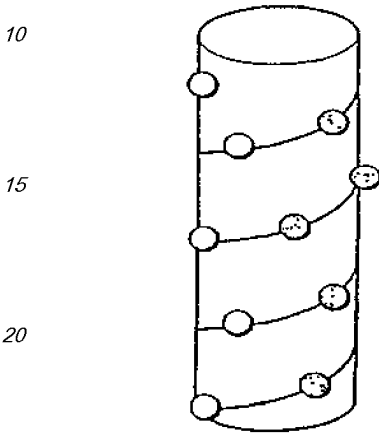


решіткова схема спіралі

ФІГ. 1В

амфіпатична α -спіраль.

- 5
- гідрофільний залишок
 - гідрофільний залишок

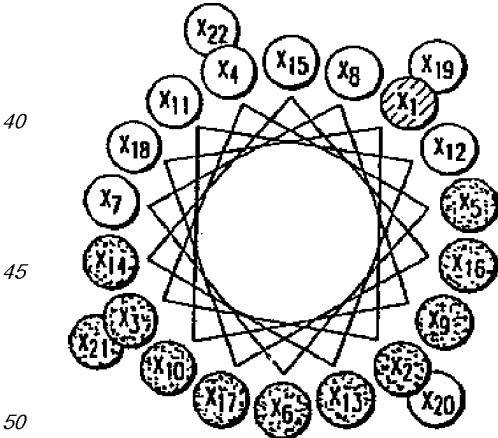


циліндрична схема спіралі

ФІГ. 1С

формула (I)

- 30
- гідрофільний залишок
 - гідрофобний залишок
 - гідрофобний або гідрофільний залишок
- 35



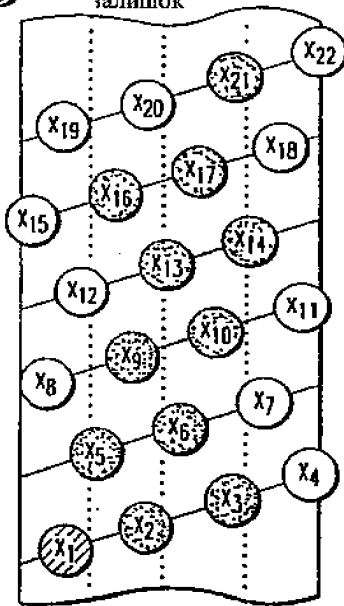
кругова схема спіралі

ФІГ. 2А

формула (I)

- гідрофільний залишок
- гідрофільний залишок
- ▨ гідрофобний або гідрофільний залишок

5
10
15
20
25



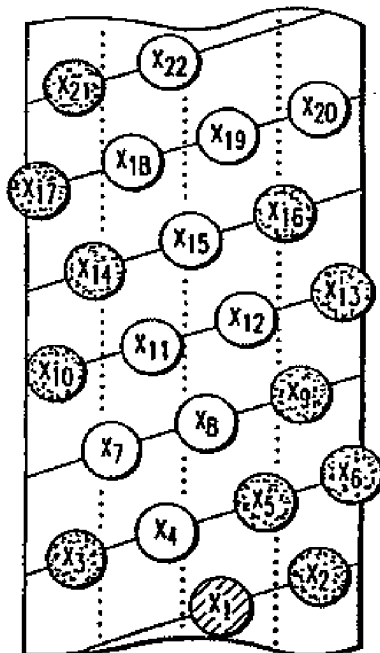
гідрофобна поверхня – по центру

Фиг. 2В

формула (I)

- гідрофільний залишок
- гідрофільний залишок
- ▨ гідрофобний або гідрофільний залишок

30
35
40
45
50
55
60



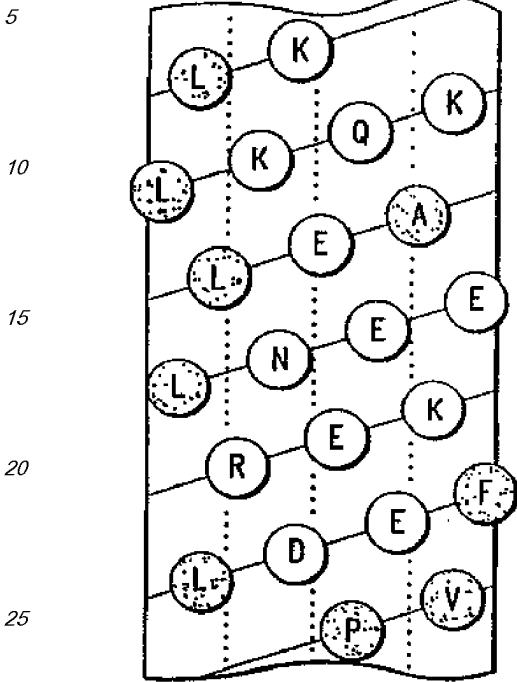
гідрофільна поверхня – по центру

Фиг. 2С

У А 7 1 5 5 3 С 2

У А 7 1 5 5 3 С 2

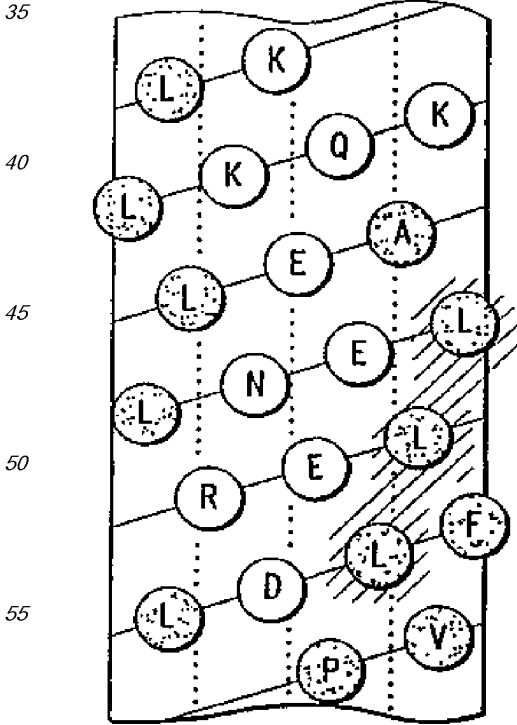
гідрофільна поверхня – по центру
 консенсусна 22-мірна послідовність



ФІГ. 3А

гідрофільна поверхня – по центру

пептид 4

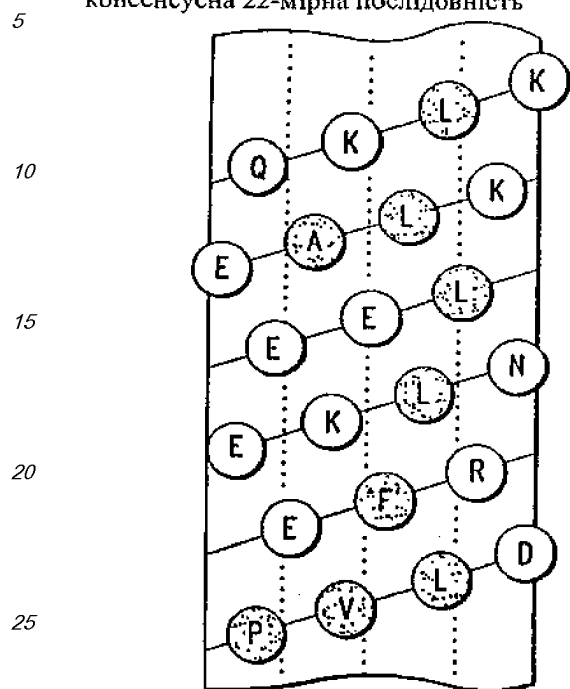


ФІГ. 3В

U A 7 1 5 5 3 C 2

гідрофобна поверхня – по центру

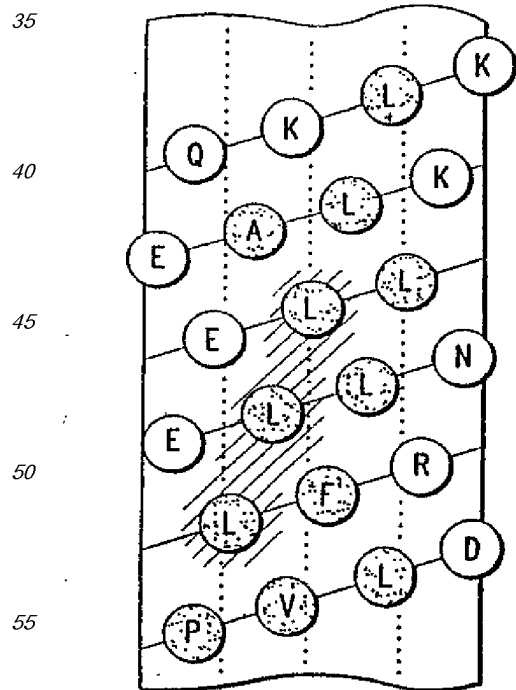
консенсусна 22-мірна послідовність



ФІГ. 4А

гідрофобна поверхня – по центру

пептид 4

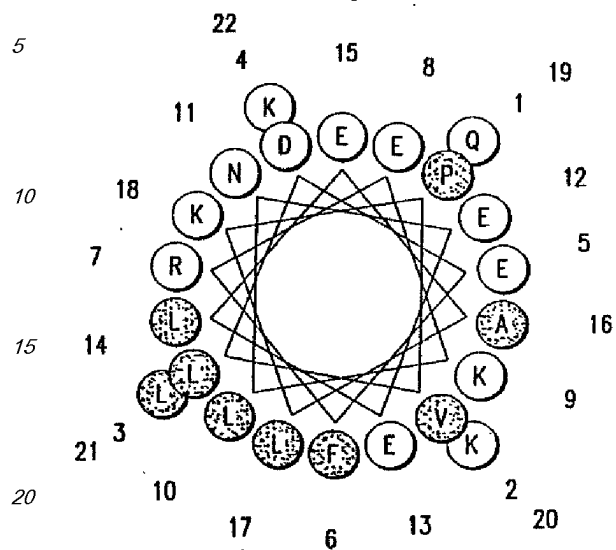


ФІГ. 4В

U A 7 1 5 5 3 C 2

U A 7 1 5 5 3 C 2

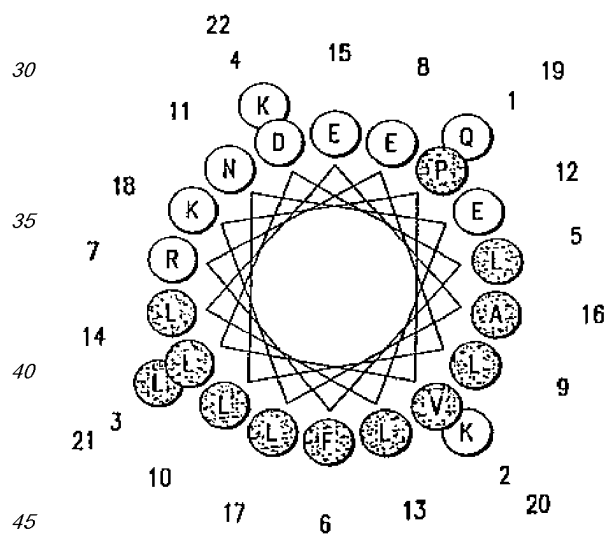
кругова схема спіралі
консенсусна 22-мірна послідовність



ФІГ. 5А

кругова схема спіралі

пептид 4

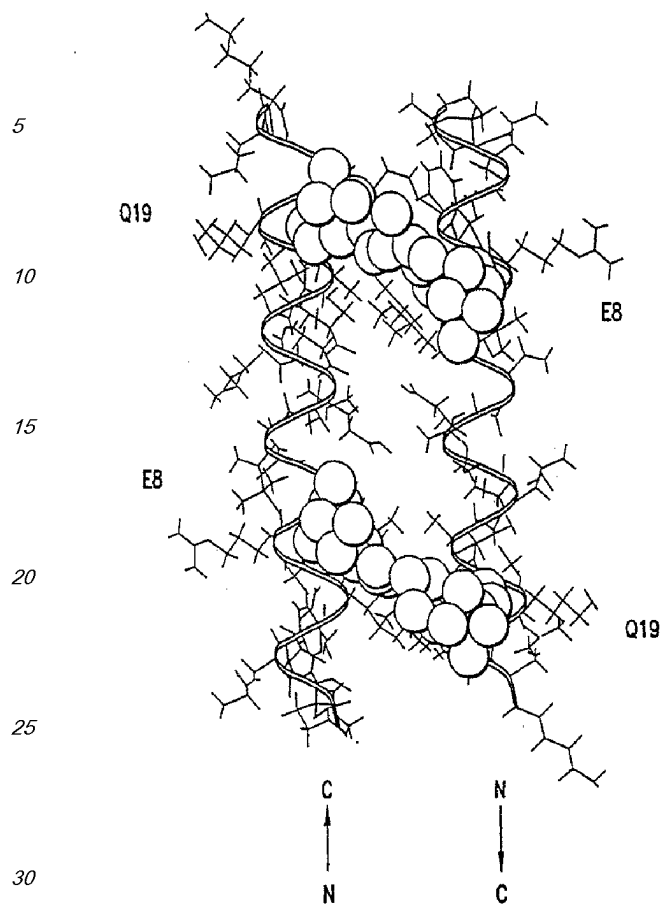


ФІГ. 5В

U A 7 1 5 5 3 C 2

U A 7 1 5 5 3 C 2

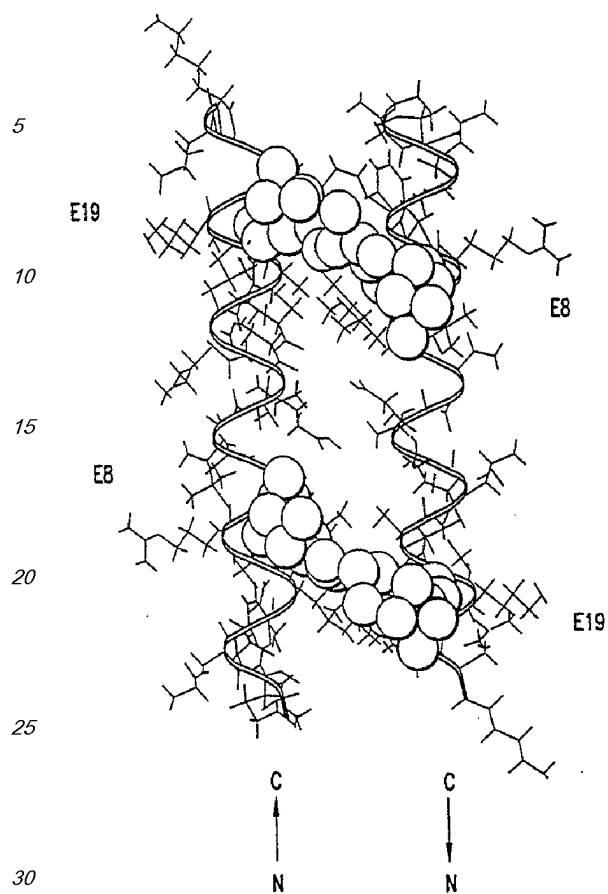
U A 7 1 5 5 3 C 2



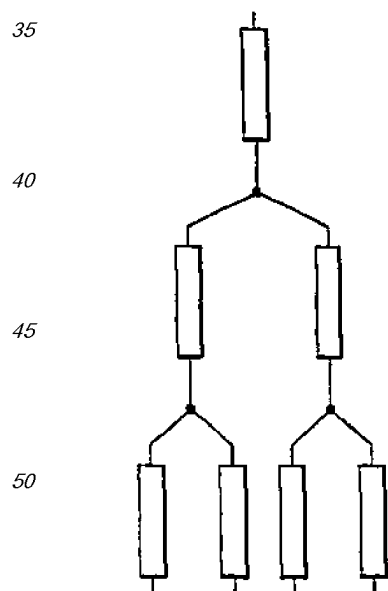
Фиг. 6A

U A 7 1 5 5 3 C 2

U A 7 1 5 5 3 C 2



Фиг. 6B



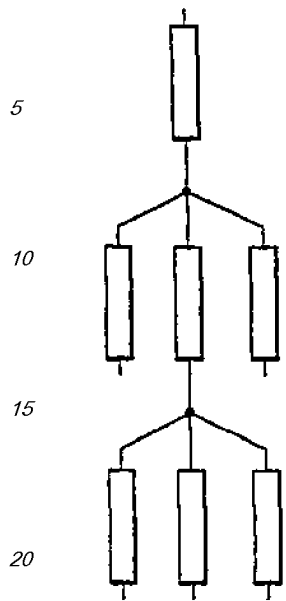
Фиг. 7A

55

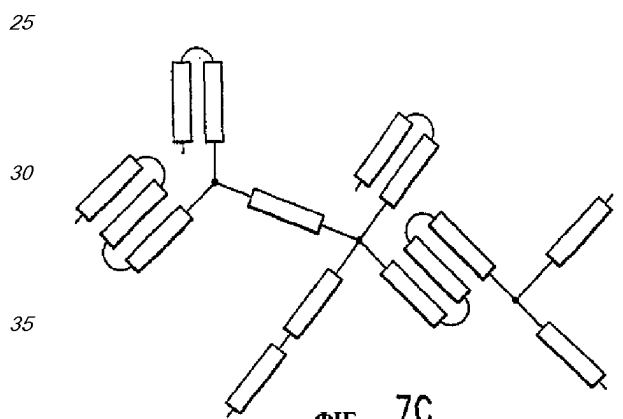
60

65

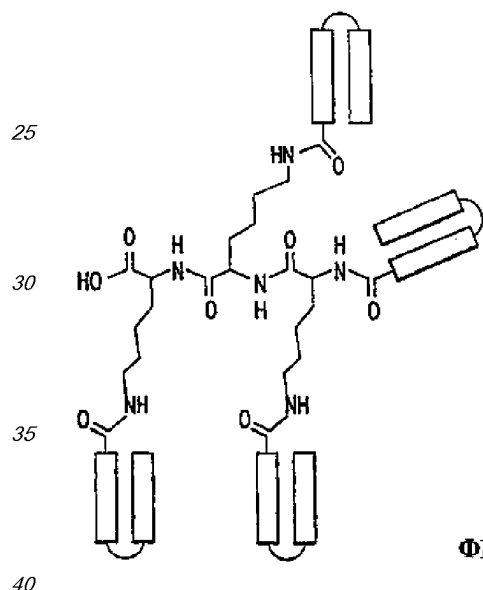
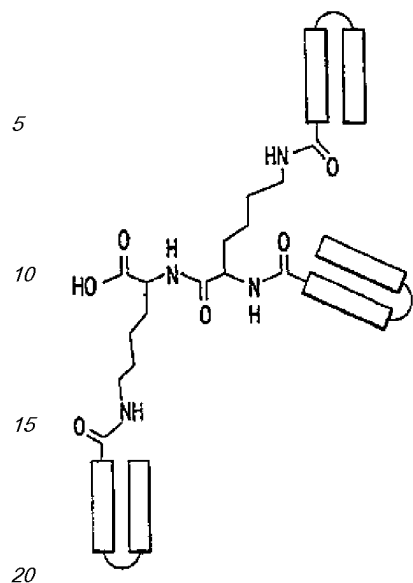
U A 7 1 5 5 3 C 2



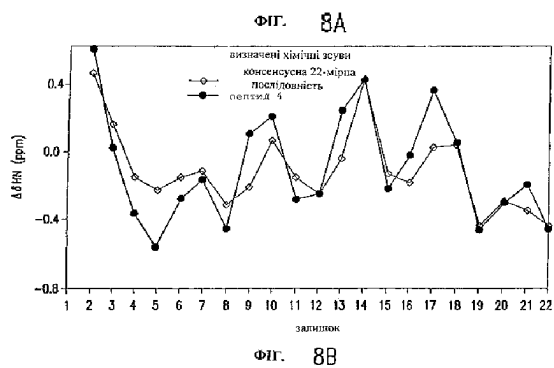
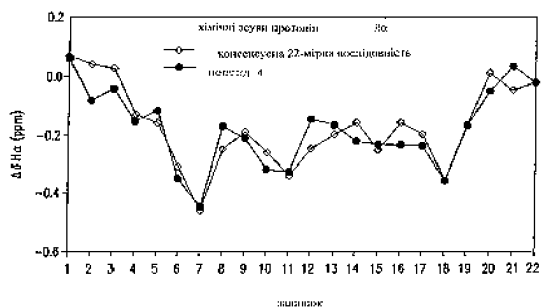
Фиг. 7В



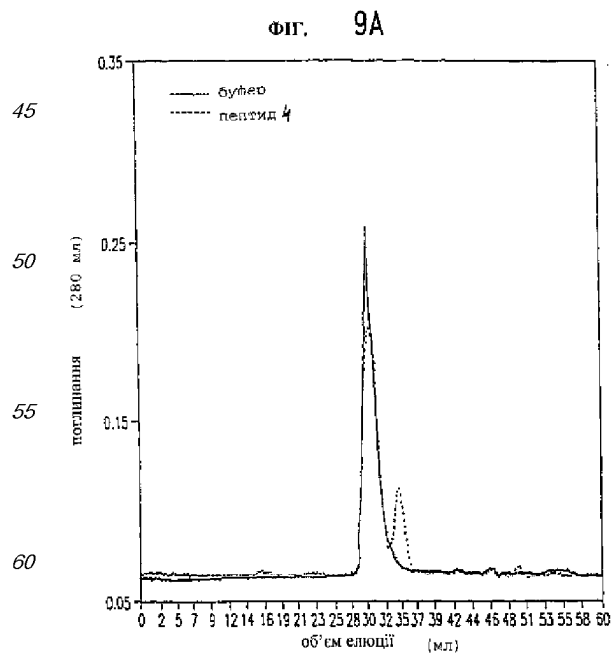
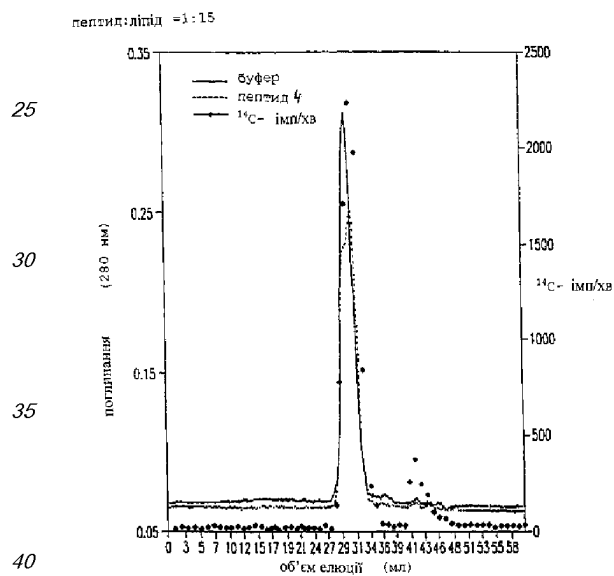
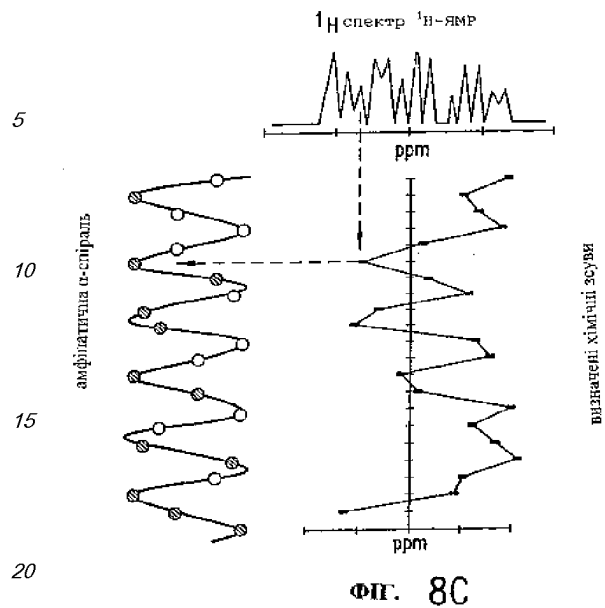
Фиг. 7С



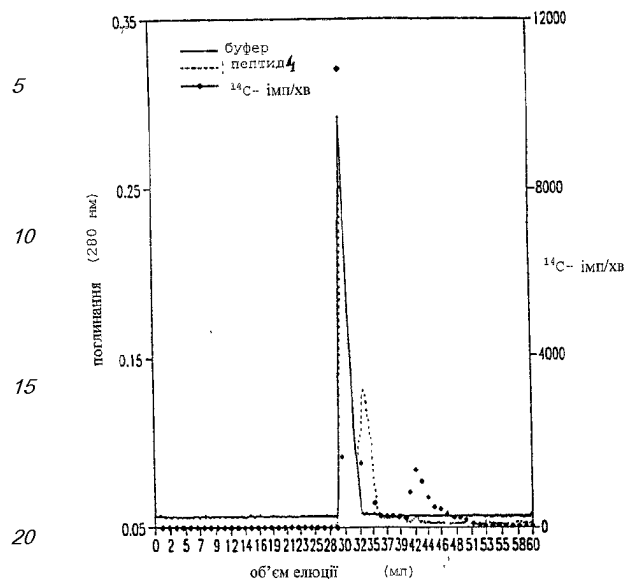
Фиг. 7D



Фиг. 8B

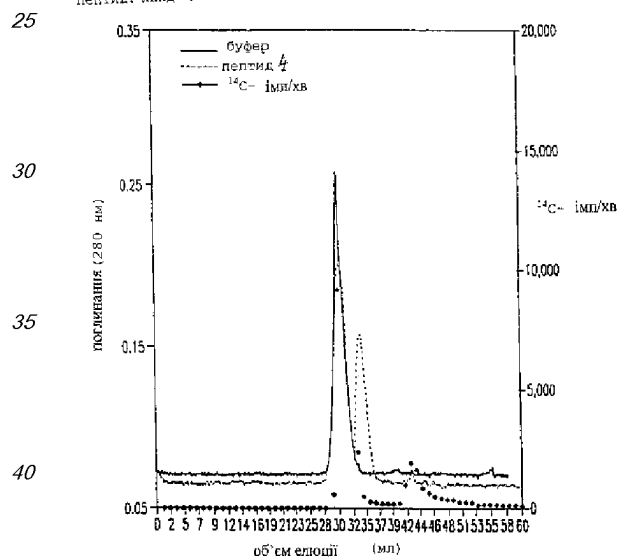


пептид: ліпід =1:5

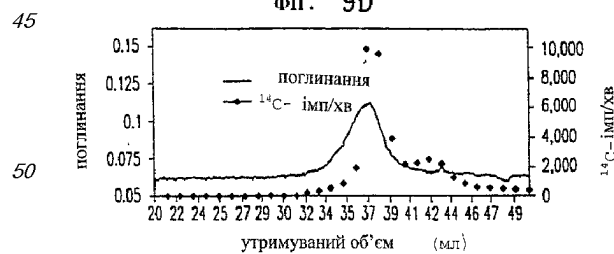


ФІГ. 9С

пептид: ліпід =1:3



ФІГ. 9D



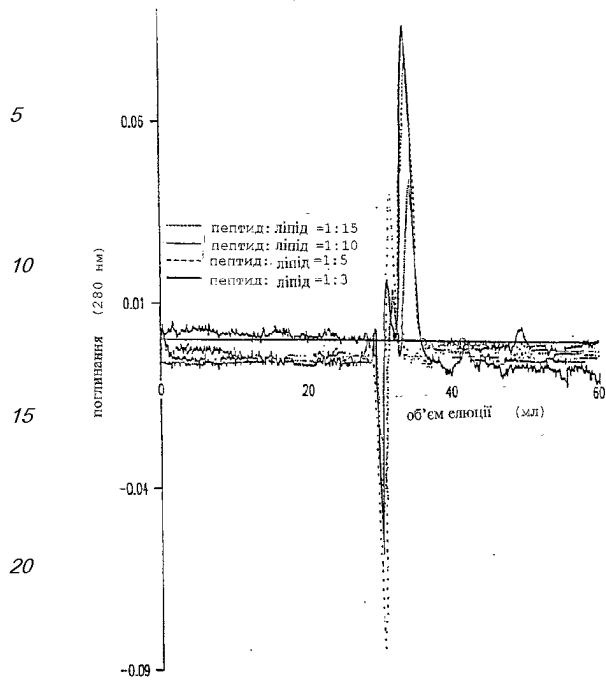
ФІГ. 9Е

55

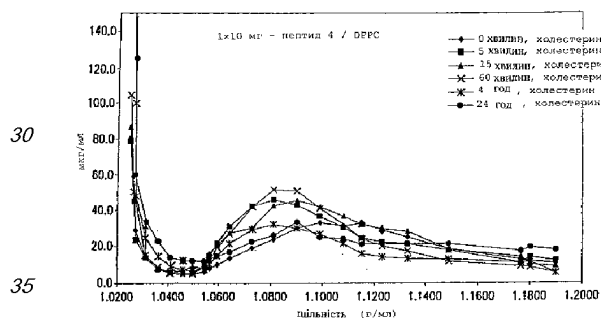
60

65

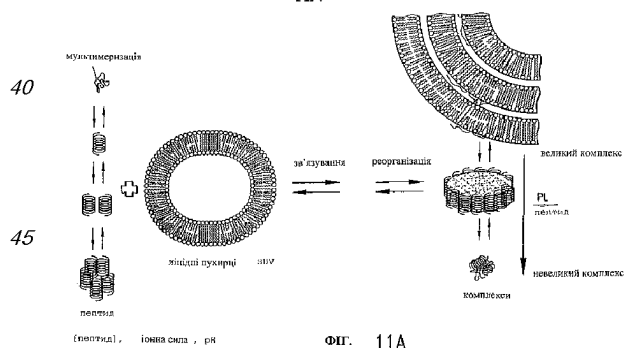
U A 7 1 5 5 3 C 2



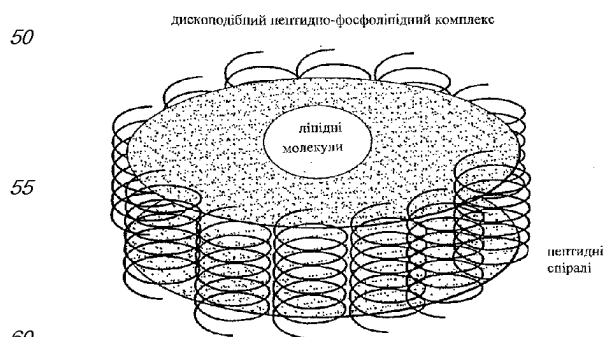
Фиг. 9F



Фиг. 10



Фиг. 11A



Фиг. 11B

Формула винаходу

1. Агоніст аполіпропротеїну А-I (АроА-I), що включає
 - (i) пептид або пептидний аналог, що містить від 15 до 29 амінокислотних залишків, який утворює амфіпатичну α -спіраль в присутності ліпідів і який характеризується наступною формулою (I):

$$Z_1-X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}-X_{21}-X_{22}-X_{23}-Z_2, (I)$$
 або його фармацевтично прийнятна сіль, де
 - X_1 представлений проліном (P), аланіном (A), гліцином (G), глутаміном (Q), аспарагіном (N), аспарагіною кислотою (D) або D-проліном (p);
 - X_2 представлений аліфатичною амінокислотою;
 - X_3 представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F);
 - X_4 представлений кислою амінокислотою;
 - X_5 представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F);
 - X_6 представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F);
 - X_7 представлений гідрофільною амінокислотою;
 - X_8 представлений кислою або основною амінокислотою;
 - X_9 представлений лейцином (L) або гліцином (G);
 - X_{10} представлений лейцином (L), триптофаном (W) або гліцином (G);
 - X_{11} представлений гідрофільною амінокислотою;
 - X_{12} представлений гідрофільною амінокислотою;
 - X_{13} представлений гліцином (G) або аліфатичною амінокислотою;
 - X_{14} представлений лейцином (L), триптофаном (W), гліцином (G) або NaI;
 - X_{15} представлений гідрофільною амінокислотою;
 - X_{16} представлений гідрофобною амінокислотою;
 - X_{17} представлений гідрофобною амінокислотою;
 - X_{18} представлений основною амінокислотою, глутаміном (Q) або аспарагіном (N);
 - X_{19} представлений основною амінокислотою, глутаміном (Q) або аспарагіном (N);
 - X_{20} представлений основною амінокислотою;
 - X_{21} представлений аліфатичною амінокислотою;
 - X_{22} представлений основною амінокислотою;
 - X_{23} відсутній або представлений основною амінокислотою;
 - Z_1 представлений H_2N- або $RC(O)NH-$;
 - Z_2 представлений $-C(O)NRR$, $-C(O)OR$ або $-C(O)OH$, або відповідною сіллю;
 кожний R незалежно один від одного представлений -H, C_{1-6} -алкілом, C_{1-6} -алкенілом, C_{1-6} -алкінілом, C_{5-20} -арилом, C_{6-26} -алкарилом, 5-20-атомним гетероарилом, 6-26-атомним алкгетероарилом або 1-7-амінокислотним пептидом або пептидним аналогом;
 - кожний знак "-" між залишками X_n незалежно один від одного означає амідний зв'язок, заміщений амідний зв'язок, ізостер амиду або міметик амиду; або
 - (ii) делетовану форму формули (I), в якій принаймні один і аж до восьми залишків з $X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, X_7, X_8, X_9, X_{10}, X_{11}, X_{12}, X_{13}, X_{14}, X_{15}, X_{16}, X_{17}, X_{18}, X_{19}, X_{20}, X_{21}, X_{22}$ делетовані; або
 - (iii) змінену форму формули (I), в якій принаймні один із залишків $X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, X_7, X_8, X_9, X_{10}, X_{11}, X_{12}, X_{13}, X_{14}, X_{15}, X_{16}, X_{17}, X_{18}, X_{19}, X_{20}, X_{21}, X_{22}$ або X_{23} по консервативному типу замінений на інший амінокислотний залишок.
2. Агоніст АроА-I за п. 1, який виявляє принаймні 38 %-у активність по активації ферменту LCAT в порівнянні з АроА-I людини.
3. Агоніст АроА-I за п. 1, який є зміненою формою формули (I).
4. Агоніст АроА-I за п. 3, в складі якого гідрофобні залишки зафіксовані відповідно до формули (I), а принаймні один нефіксований залишок замінений по консервативному типу на інший амінокислотний залишок.
5. Агоніст АроА-I за п. 4, в якому:
 - X_1 представлений проліном (P), D-проліном (p), гліцином (G) або аланіном (A);
 - X_2 представлений аланіном (A), лейцином (L) або валіном (V);
 - X_3 представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F);
 - X_5 представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F);
 - X_6 представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F);
 - X_9 представлений лейцином (L) або гліцином (G);
 - X_{10} представлений лейцином (L), триптофаном (W) або гліцином (G);
 - X_{13} представлений лейцином (L), гліцином (G) або Aib;
 - X_{14} представлений лейцином, NaI, триптофаном (W) або гліцином (G);
 - X_{16} представлений аланіном (A), NaI, триптофаном (W), гліцином (G), лейцином (L) або фенілаланіном (F);
 - X_{17} представлений лейцином (L), гліцином (G) або NaI;
 - X_{21} представлений лейцином (L); і
 - принаймні один із залишків $X_4, X_7, X_8, X_{11}, X_{12}, X_{15}, X_{18}, X_{19}, X_{20}, X_{22}$ і X_{23} замінений по консервативному типу на інший амінокислотний залишок.
6. Агоніст АроА-I за п. 3, в якому гідрофільні залишки зафіксовані відповідно до формули (I), а принаймні один нефіксований залишок замінений по консервативному типу на інший амінокислотний залишок.
7. Агоніст АроА-I за п. 6, в якому:
 - X_4 представлений аспарагіною кислотою (D) або глутаміною кислотою (E);

- Х₇ представлений лізином (К), аргініном (R) або орнітином;
Х₈ представлений аспарагіною кислотою (D) або глутаміною кислотою (E);
Х₁₁ представлений аспарагіном (N) або глутаміном (Q);
5 Х₁₂ представлений глутаміною кислотою (E) або аспарагіною кислотою (D);
Х₁₅ представлений аспарагіною кислотою (D) або глутаміною кислотою (E);
Х₁₈ представлений глутаміном (Q), аспарагіном (N), лізином (К) або орнітином;
Х₁₉ представлений глутаміном (Q), аспарагіном (N), лізином (К) або орнітином;
Х₂₀ представлений лізином (К) або орнітином;
10 Х₂₂ представлений лізином (К) або орнітином;
Х₂₃ відсутній або представлений лізином (К); і
принаймні один із залишків Х₁, Х₂, Х₃, Х₅, Х₆, Х₉, Х₁₀, Х₁₃, Х₁₄, Х₁₆, Х₁₇ і Х₂₁ замінений по консервативному типу на інший амінокислотний залишок.
8. Агоніст АроА-I за п. 7, в складі якого Х₃ представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F), Х₆
15 представлений фенілаланіном (F), Х₉ представлений лейцином (L) або гліцином (G), Х₁₀ представлений лейцином (L) або триптофаном (W), або гліцином (G) і принаймні один із залишків Х₁, Х₂, Х₅, Х₁₃, Х₁₄, Х₁₆, Х₁₇ і Х₂₁ замінений по консервативному типу на інший амінокислотний залишок.
9. Агоніст АроА-I за пп. 5 або 7, в складі якого замінюючий залишок класифікується в ту ж підгрупу, що і залишок, що замінюється.
- 20 10. Агоніст АроА-I за п. 1, що є делетованою формою формули (I).
11. Агоніст АроА-I за п. 10, в складі якого один виток спіралі пептиду або пептидного аналога делетований.
12. Агоніст АроА-I за п. 1, що є пептидом, який складається з 22-23 амінокислот, або пептидним аналогом формули (I).
13. Агоніст АроА-I за п. 12, в складі якого:
25 знак "-" між залишками означає групу -C(O)NH-;
Z₁ представлений H₂N-; і
Z₂ представлений -C(O)OH або його сіллю.
14. Агоніст АроА-I за п. 13, в складі якого:
30 Х₁ представлений проліном (P), аланіном (A), гліцином (G), аспарагіном (N), глутаміном (Q), аспарагіною кислотою (D) або D-проліном (p);
Х₂ представлений аланіном (A), валіном (V) або лейцином (L);
Х₃ представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F);
Х₄ представлений аспарагіною кислотою (D) або глутаміною кислотою (E);
Х₅ представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F);
35 Х₆ представлений лейцином (L) або фенілаланіном (F);
Х₇ представлений лізином (К), аргініном (R) або орнітином;
Х₈ представлений аспарагіною кислотою (D) або глутаміною кислотою (E);
Х₉ представлений лейцином (L) або гліцином (G);
Х₁₀ представлений лейцином (L), триптофаном (W) або гліцином (G);
40 Х₁₁ аспарагіном (N) або глутаміном (Q);
Х₁₂ представлений глутаміною кислотою (E) або аспарагіною кислотою (D);
Х₁₃ представлений гліцином (G), лейцином (L) або Aib;
Х₁₄ представлений лейцином (L), Nal, триптофаном (W) або гліцином (G);
Х₁₅ представлений аспарагіною кислотою (D) або глутаміною кислотою (E);
45 Х₁₆ представлений аланіном (A), Nal, триптофаном (W), лейцином (L), фенілаланіном (F) або гліцином (G);
Х₁₇ представлений гліцином (G), лейцином (L) або Nal;
Х₁₈ представлений глутаміном (Q), аспарагіном (N), лізином (К) або орнітином;
Х₁₉ представлений глутаміном (Q), аспарагіном (N), лізином (К) або орнітином;
50 Х₂₀ представлений лізином (К) або орнітином;
Х₂₁ представлений лейцином (L);
Х₂₂ представлений лізином (К) або орнітином; і Х₂₃ відсутній або представлений лізином (К).
15. Агоніст АроА-I за п. 14, в складі якого амінокислота Х₂₃ відсутня.
16. Агоніст АроА-I за пп. 13 або 14, в складі якого один із залишків Х₁₈ або Х₁₉ представлений глутаміном (Q)
55 або аспарагіном (N), а при цьому інший залишок Х₁₈ або Х₁₉ представлений лізином (К) або орнітином.
17. Агоніст АроА-I за п. 14, в складі якого кожний із залишків Х₉, Х₁₀, Х₁₃, Х₁₄, Х₁₅ і Х₁₇ не є гліцином (G).
18. Агоніст АроА-I за п. 14, в складі якого один із залишків Х₉, Х₁₀, Х₁₃, Х₁₄, Х₁₅ і Х₁₇ представлений гліцином (G), а інші не є гліцином (G).
19. Агоніст АроА-I за п. 1, який вибирають з групи, що включає:
- 60 пептид 1 PVLDFRELLNELLEZLKQKLK (SEQ ID NO 1);
пептид 2 GVLDLFRELLNELLEALKQKLKK (SEQ ID NO 2);
пептид 3 PVLDFRELLNELLEWLKQKLK (SEQ ID NO 3);
пептид 4 PVLDFRELLNELLEALKQKLK (SEQ ID NO 4);
65

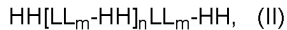
5	пептид 5	pVLDLFRELLNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 5);
	пептид 6	PVLDLFRELLNEXLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 6);
	пептид 7	PVLDLFKELLNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 7);
	пептид 8	PVLDLFRELLNEGLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 8);
	пептид 9	PVLDLFRELGNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 9);
10	пептид 10	PVLDLFRELLNELLEAZKQKCLK	(SEQ ID NO 10);
	пептид 11	PVLDLFKELLQELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 11);
	пептид 12	PVLDLFRELLNELLEAGKQKCLK	(SEQ ID NO 12);
	пептид 13	GVLDLFRELLNEGLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 13);
15	пептид 14	PVLDLFRELLNELLEALOQOLO	(SEQ ID NO 14);
	пептид 15	PVLDLFRELWNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 15);
	пептид 16	PVLDLLRELLNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 16);
20	пептид 17	PVLELFKELLQELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 17);
	пептид 18	GVLDLFRELLNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 18);
	пептид 19	PVLDLFRELLNEGLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 19);
25	пептид 20	PVLDLFREGLNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 20);
	пептид 21	pVLDLFRELLNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 21);
	пептид 22	PVLDLFRELLNELLEGLKQKCLK	(SEQ ID NO 22);
	пептид 23	PLLELFKELLQELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 23);
30	пептид 24	PVLDLFRELLNELLEALQKCLK	(SEQ ID NO 24);
	пептид 25	PVLDFFRELLNEXLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 25);
	пептид 26	PVLDLFRELLNELLELLKQKCLK	(SEQ ID NO 26);
35	пептид 27	PVLDLFRELLNELZEALKQKCLK	(SEQ ID NO 27);
	пептид 28	PVLDLFRELLNELWEALKQKCLK	(SEQ ID NO 28);
	пептид 29	AVLDLFRELLNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 29);
40	пептид 123	QVLDLFRELLNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 123);
	пептид 124	PVLDLFOELLNELLEALOQOLO	(SEQ ID NO 124);
	пептид 125	NVLDLFRELLNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 125);
	пептид 126	PVLDLFRELLNELGEALKQKCLK	(SEQ ID NO 126);
45	пептид 127	PVLDLFRELLNELLELLKQKCLK	(SEQ ID NO 127);
	пептид 128	PVLDLFRELLNELLEFLKQKCLK	(SEQ ID NO 128);
	пептид 129	PVLELFNDLLRELLEALQKCLK	(SEQ ID NO 129);
50	пептид 130	PVLELFNDLLRELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 130);
	пептид 131	PVLELFKELLNELLDALRQKCLK	(SEQ ID NO 131);
	пептид 132	PVLDLFRELLNLEALQKCLK	(SEQ ID NO 132);
55	пептид 133	PVLELFERLLEDLLQALNKKCLK	(SEQ ID NO 133);
	пептид 134	PVLELFERLLEDLLKALNQKCLK	(SEQ ID NO 134);
	пептид 135	DVLDLFRELLNELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 135);
	пептид 136	PALELFKDLLQELLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 136);
60	пептид 137	PVLDLFRELLNEGLEAZKQKCLK	(SEQ ID NO 137);
	пептид 138	PVLDLFRELLNEGLEWLKQKCLK	(SEQ ID NO 138);
	пептид 139	PVLDLFRELWNEGLEALKQKCLK	(SEQ ID NO 139);
65	пептид 140	PVLDLFRELLNEGLEALOQOLO	(SEQ ID NO 140);

пептид 141 PVLDFFRELLNEGLEALKQKLK (SEQ ID NO 141);

пептид 142 PVLELFRELLNEGLEALKQKLK (SEQ ID NO 142);

і ацильовані по N-кінцю і (або) амідовані по C-кінцю, або етерифіковані їх форми, при тому, що X означає Aib, Z означає Nal, а O означає орнітин.

20. Мультимірний агоніст АроА-I, який виявляє щонайменше 38 %-у активність по активації ферменту LCAT в порівнянні з АроА-I людини і який характеризується формулою (II):



або його фармацевтично прийнятна сіль, де:

кожний показник m незалежно один від одного є цілим числом від 0 до 1;

n є цілим числом від 0 до 10;

кожний NH незалежно представляє пептид або пептидний аналог за п. 1;

кожний LL незалежно представляє біфункціональний лінкер; і

кожний знак "-" незалежно означає ковалентний зв'язок.

21. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 20 в складі якого біфункціональний лінкер є таким, що розщеплюється.

22. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 20, в якого n дорівнює 0.

23. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 22, в якого m дорівнює 0.

24. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 20, в якого кожний NH незалежно один від іншого є пептидом за п. 13.

25. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 20, в якого кожний NH незалежно один від іншого є пептидом за п. 14.

26. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 20, в якого кожний NH незалежно один від іншого є пептидом за п. 19.

27. Мультимірний агоніст АроА-I, який виявляє принаймні 38 % - у активність по активації ферменту LCAT в порівнянні з АроА-I людини і який характеризується формулою (III):



або його фармацевтично прийнятна сіль, де:

кожний X незалежно представлений $\text{NH}[\text{LL}_m\text{-NH}]_n\text{LL}_m\text{-NH}$;

кожний NH незалежно представлений базовим пептидом формули (I) або його аналогом, або мутованим, укороченим, делетованим по внутрішньому положенню або добудованим варіантом відповідно до описаного в даному тексті;

кожний LL незалежно представлений біфункціональним лінкером;

кожний m незалежно є цілим числом від 0 до 1;

кожний n незалежно є цілим числом від 0 до 8;

N_{y_a} і N_{y_b} незалежно один від одного є багатфункціональною зв'язуючою складовою, де y_a і y_b представляють число функціональних груп, відповідно, в N_{y_a} і N_{y_b} ;

кожний y_a або y_b незалежно є цілим числом від 3 до 8;

p є цілим числом від 0 до 7; і

кожний знак "-" незалежно означає ковалентний зв'язок.

28. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 27, в складі якого біфункціональний лінкер є таким, що розщеплюється.

29. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 27, в якого n дорівнює 0.

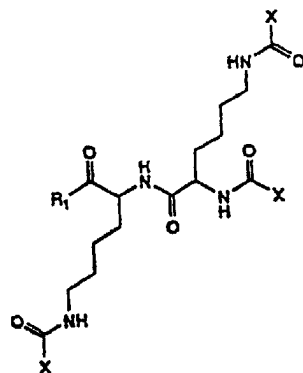
30. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 29, в якого m дорівнює 0.

31. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 27, в якого кожний NH незалежно один від іншого є пептидом за п. 13.

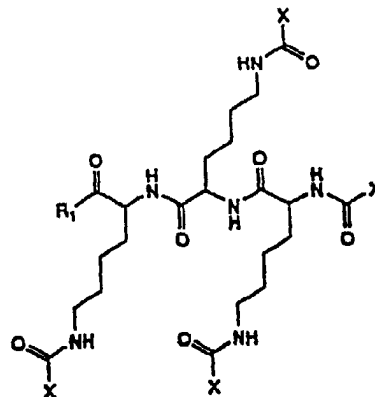
32. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 27, в якого кожний NH незалежно один від іншого є пептидом за п. 14.

33. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 27, в якого кожний NH незалежно один від іншого є пептидом за п. 19.

34. Мультимірний агоніст АроА-I, який виявляє принаймні 38 %-у активність по активації ферменту LCAT в порівнянні з АроА-I людини і який характеризується формулою (IV) або (V):



(IV)



(V)

або його фармацевтично прийнятна сіль, де:

кожний X незалежно представлений $\text{NH}[\text{LL}_m\text{-NH}]_n\text{LL}_m\text{-NH}$;

кожний NH незалежно представлений пептидом або пептидним аналогом за п. 1;

кожний LL незалежно представлений біфункціональним лінкером;

кожний n незалежно є цілим числом від 0 до 1;

кожний m незалежно є цілим числом від 0 до 8;

R_1 є -OR або -NRR; i

кожний R незалежно представлений -H, C_{1-6} -алкілом, C_{1-6} -алкенілом, C_{1-6} -алкінілом, C_{5-20} -арилом, C_{6-26} -алкарилом, 5-20-атомним гетероарилом або 6-26-атомним алкгетероарилом.

35. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 34, в складі якого біфункціональний лінкер є таким, що розщеплюється.

36. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 34, в якого n дорівнює 0.

37. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 36, в якого m дорівнює 0.

38. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 34, в якого кожний НН незалежно один від іншого є пептидом за п. 13.

39. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 34, в якого кожний НН незалежно один від іншого є пептидом за п. 14.

40. Мультимірний агоніст АроА-I за п. 34, в якого кожний НН незалежно один від іншого є пептидом за п. 19.

41. Комплекс агоніста АроА-I і ліпиду, що складається з агоніста АроА-I і ліпиду, при тому, що агоніст АроА-I є пептидом або пептидним аналогом за п. 1, мультимірним агоністом АроА-I за п. 20, мультимірним агоністом АроА-I за п. 27 або мультимірним агоністом АроА-I за п. 34.

42. Комплекс агоніста АроА-I і ліпиду за п. 41, в якому агоніст АроА-I є пептидом за п. 12.

43. Комплекс агоніста АроА-I і ліпиду за п. 41, в якому агоніст АроА-I є пептидом за п. 13.

44. Комплекс агоніста АроА-I і ліпиду за п. 41, в якому агоніст АроА-I є пептидом за п. 14.

45. Комплекс агоніста АроА-I і ліпиду за п. 41, в якому агоніст АроА-I є пептидом за п. 19.

46. Комплекс агоніста АроА-I і ліпиду за п. 41, в якому ліпідом є сфінгомієлін.

47. Комплекс агоніста АроА-I і ліпиду за п. 41, який знаходиться в формі ліофілізованого порошку.

48. Комплекс агоніста АроА-I і ліпиду за п. 41, який знаходиться в формі розчину.

49. Фармацевтична композиція, що містить агоніст АроА-I і фармацевтично прийнятний носій, наповнювач або розчинник, при тому, що агоніст АроА-I є пептидом або пептидним аналогом за п. 1, мультимірним агоністом АроА-I за п. 20, мультимірним агоністом АроА-I за п. 27 або мультимірним агоністом АроА-I за п. 34.

50. Фармацевтична композиція за п. 49, в якій агоніст АроА-I є пептидом за п. 12.

51. Фармацевтична композиція за п. 49, в якій агоніст АроА-I є пептидом за п. 13.

52. Фармацевтична композиція за п. 49, в якій агоніст АроА-I є пептидом за п. 14.

53. Фармацевтична композиція за п. 49, в якій агоніст АроА-I є пептидом за п. 19.

54. Фармацевтична композиція за будь-яким з пп. 49-53, в якій агоніст АроА-I знаходиться в формі комплексу з ліпідом, при тому, що згаданий комплекс складається з агоніста АроА-I і ліпиду.

55. Фармацевтична композиція за п. 54, в якій комплекс агоніста АроА-I і ліпиду знаходиться в формі ліофілізованого порошку.

56. Спосіб лікування пацієнта, що страждає від захворювання, пов'язаного з дисліпідемією, при тому, що згаданий спосіб включає етап введення такому пацієнту ефективної кількості агоніста АроА-I за п. 1.

57. Спосіб за п. 56, при тому, що згаданим пацієнтом є людина.

58. Спосіб за п. 56, при тому, що згаданому пацієнту вводять від приблизно 0,5 мг/кг до приблизно 100 мг/кг агоніста АроА-I.

59. Спосіб за п. 56, при тому, що агоніст АроА-I знаходиться в формі фармацевтичної композиції, при тому, що згадана композиція містить агоніст АроА-I і фармацевтично прийнятний носій, наповнювач або розчинник.

60. Спосіб за п. 56, при тому, що агоніст АроА-I знаходиться в формі комплексу агоніста АроА-I і ліпиду, при тому, що згаданий комплекс складається з агоніста АроА-I і ліпиду.

61. Спосіб за п. 56, при тому, що пов'язаним з дисліпідемією захворюванням є гіперхолестеринемія.

62. Спосіб за п. 56, при тому, що пов'язаним з дисліпідемією захворюванням є серцево-судинне захворювання.

63. Спосіб за п. 56, при тому, що пов'язаним з дисліпідемією захворюванням є атеросклероз.

64. Спосіб за п. 56, при тому, що пов'язаним з дисліпідемією захворюванням є рестеноз.

65. Спосіб за п. 56, при тому, що пов'язаним з дисліпідемією захворюванням є дефіцит HDL або АроА-I.

66. Спосіб за п. 56, при тому, що пов'язаним з дисліпідемією захворюванням є гіпертригліцеридемія.

67. Спосіб за п. 56, при тому, що пов'язаним з дисліпідемією захворюванням є метаболічний синдром.

68. Спосіб лікування пацієнта, що страждає від септичного шоку, при тому, що згаданий спосіб включає етап введення такому пацієнту ефективної кількості агоніста АроА-I за п. 1.

69. Спосіб за п. 68, при тому, що згаданим пацієнтом є людина.

70. Спосіб за п. 68, при тому, що згаданому пацієнту вводять від приблизно 0,5 мг/кг до приблизно 100 мг/кг агоніста АроА-I.

Офіційний бюлетень "Промислова власність". Книга 1 "Винаходи, корисні моделі, топографії інтегральних мікросхем", 2004, N 12, 15.12.2004. Державний департамент інтелектуальної власності Міністерства освіти і науки України.