



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **127305** (13) **C2**
(51) МПК (2023.01)**C07K 16/40** (2006.01)**C07K 19/00****C12N 15/15** (2006.01)**C12N 15/62** (2006.01)**A61K 38/57** (2006.01)**A61K 47/68** (2017.01)

A61P 11/00

A61P 37/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2017 05128	(72) Винахідник(и): Екельман Брендан П. (US), Тимер Джон К. (US), Деверо Квін (US)
(22) Дата подання заявки: 27.10.2015	(73) Володілець (володільці): ІНГІБРЕКС, ІНК., 11025 N. Torrey Pines Road, Suite 200, La Jolla, California 92037, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 20.07.2023	(74) Представник: Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Парижської конвенції: 14/524,832	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2013003641 A2, 03.01.2013 WO 2014001325 A1, 03.01.2014 WO 2004092219 A2, 28.10.2004 US 2013058919 A1, 07.03.2013 US 2006173170 A1, 03.08.2006 US 2008171689 A1, 17.07.2008 US 2013011398 A1, 10.01.2013 US 2013011386 A1, 10.01.2013 US 8633305 B2, 21.01.2014 US 2014051834 A1, 20.02.2014
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Парижської конвенції: 27.10.2014	
(33) Код держави-учасниці Парижської конвенції, до якої подано попередню заявку: US	
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.09.2017, Бюл.№ 18	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 19.07.2023, Бюл.№ 29	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/US2015/057533, 27.10.2015	

(54) ЗЛИТИЙ СЕРПІНОВИЙ ПОЛІПЕПТИД І СПОСІБ ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ**(57) Реферат:**

Винахід належить до виділеного злитого білка, який містить щонайменше один людський серпіновий поліпептид, функціонально зв'язаний з модифікованим поліпептидом Fc людського IgG4, де модифікований поліпептид Fc людського IgG4 додатково містить мутацію M252Y або M252I в положенні M252 і мутацію M428L або M428V в положенні M428 згідно з системою нумерації за Kabat; і людський серпіновий поліпептид є поліпептидом людського альфа-1-антитрипсину (ААТ) або походить від поліпептиду людського ААТ і містить мутацію M351E і мутацію M358L в положеннях, що відповідають положенням M351 і M358 ААТ, для застосування у способі інгібування або зниження регулювання аберантної активності серинової протеази у суб'єкта, який цього потребує.

UA 127305 C2

ЗЛИТІ СЕРПІНОВІ ПОЛІПЕПТИДИ І СПОСОБИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

Споріднені заявки

[0001] Дана заявка вимагає пріоритет по заявці на патент США № 14/524832, поданій 27 жовтня 2014 р., зміст якої повністю включений в дану заявку за допомогою посилання.

5 Включення списку послідовностей

[0002] Вміст текстового файлу з назвою "INHI002002WO_SeqList.txt", створеного 26 жовтня 2015 р., розміром 228 Кбайт включений в дану заявку в повному обсязі за допомогою посилання.

Галузь техніки, до якої належить винахід

10 [0003] Даний винахід стосується молекул, зокрема, поліпептидів, конкретніше, злитих білків, які містять серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпінових поліпептидів, і другий поліпептид. Додатково даний винахід стосується злитих білків, які містять серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпінових поліпептидів, другий поліпептид і третій поліпептид. Зокрема, даний винахід

15 стосується злитих білків, які містять щонайменше один серпіновий поліпептид і другий поліпептид, або до злитих білків, які містять щонайменше один серпіновий поліпептид, другий поліпептид і третій поліпептид, де другий і третій поліпептид злитих білків даного винаходу може бути щонайменше одним з наступних: поліпептидом Fc або амінокислотою

20 послідовністю, що отримується з поліпептиду Fc; що діє на цитокіни поліпептидом, або послідовністю, що отримується діючого на цитокіни поліпептиду; поліпептидом, що містить домен WAP, або послідовністю, що отримується з поліпептиду, що містить домен WAP; або альбуміновим поліпептидом або амінокислотою послідовністю, що отримується з поліпептиду сироваткового альбуміну. Даний винахід також стосується способів застосування таких молекул по ряду терапевтичного і діагностичного свідчення, а також способів отримання таких молекул.

25 Рівень техніки

[0004] Порушена активність серинових протеаз або порушений баланс протеази і інгібітора протеази можуть привести до викликаного протеазою руйнування тканини і запальної відповіді. Відповідно, існує необхідність в лікарських засобах і способах терапії, які діють на порушену активність серинових протеаз і/або на порушений баланс протеази і інгібітора протеази. Також

30 терапевтичний ефект може бути підвищений при атенуації порушеного цитокінового шляху передачі сигналу і порушеної активності серинових протеаз. Додатково, було показано, що серпінові білки мають протиінфекційну активність, в той час як дію на цитокіни підвищує ризик розвитку інфекції. Злиті білки даного винаходу мають здатність зменшувати активність запальних цитокінів і обмежувати ризик розвитку інфекції.

35 Короткий зміст винаходу

[0005] Злиті білки, описані в даному винаході, включають щонайменше серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпінового поліпептиду (Поліпептиду 1), і другий поліпептид (Поліпептид 2). Додатково злиті білки, описані в даній заявці, включають серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з

40 серпінового поліпептиду (Поліпептиду 1), другий поліпептид (Поліпептид 2) і третій поліпептид (Поліпептид 3). Як взаємозамінно застосовують в даній заявці, терміни "злитий білок" і "злитий поліпептид" стосуються серпінового поліпептиду або амінокислотної послідовності, що отримується з серпінового поліпептиду, функціонально зв'язаним щонайменше з одним другим поліпептидом або з амінокислотою послідовністю, що отримується щонайменше з другого

45 поліпептиду. Окремі елементи злитих білків можуть бути зв'язані будь-яким з множини способів, включаючи, наприклад, пряме приєднання, використання проміжного або спейсерного пептиду, використання лінкерної ділянки, використання шарнірної ділянки або використання як лінкерної, так і шарнірної ділянок. У деяких варіантах здійснення даного винаходу лінкерна ділянка може бути частиною послідовності шарнірної ділянки або, як альтернатива, шарнірна ділянка може

50 бути частиною послідовності лінкерної ділянки. Переважно, щоб лінкерна ділянка була пептидною послідовністю. Наприклад, лінкерний пептид включає будь-яку кількість амінокислот від нуля до 40 амінокислот, наприклад, від нуля до 35 амінокислот, від нуля до 30 амінокислот, від нуля до 25 амінокислот або від нуля до 20 амінокислот. Переважно, щоб шарнірна ділянка була пептидною послідовністю. Наприклад, шарнірний пептид включає будь-яку кількість

55 амінокислот від нуля до 75 амінокислот, наприклад, від нуля до 70 амінокислот, від нуля до 65 амінокислот, від нуля до 62 амінокислот. У тих варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок включає як лінкерну ділянку, так і шарнірну ділянку, переважно, щоб і лінкерна ділянка, і шарнірна ділянка були пептидними послідовностями. У цих варіантах здійснення даного винаходу шарнірний пептид і лінкерний пептид разом включають будь-яку кількість

60 амінокислот від нуля до 90 амінокислот, наприклад, від нуля до 85 амінокислот або від нуля до

82 амінокислот.

[0006] У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і другий поліпептид можуть бути з'єднані проміжним зв'язувальним білком. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпінова частина і частина другого поліпептиду в злитому білку

5 можуть бути з'єднані нековалентно.

[0007] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки відповідно до даного винаходу можуть мати одну з наступних формул в напрямку від N-кінця до C-кінця або в напрямку від C-кінця до N-кінця:

Поліпептид 1_(a)-шарнір_m - Поліпептид 2_(b)

10 Поліпептид 1_(a)-лінкер_n - Поліпептид 2_(b)

Поліпептид 1_(a)-лінкер_n - шарнір_m - Поліпептид 2_(b)

Поліпептид 1_(a)-шарнір_m - лінкер_n - Поліпептид 2_(b)

Поліпептид 1_(a)-Поліпептид 2_(b)- Поліпептид 3_(c)

Поліпептид 1_(a)-шарнір_m - Поліпептид 2_(b)- шарнір_m - Поліпептид 3_(c)

15 Поліпептид 1_(a)-лінкер_n - Поліпептид 2_(b)- лінкер_n - Поліпептид 3_(c)

Поліпептид 1_(a)-шарнір_m - лінкер_n - Поліпептид 2_(b)- шарнір_m - лінкер_n - Поліпептид 3_(c)

Поліпептид 1_(a)-лінкер_n - шарнір_m - Поліпептид 2_(b)- лінкер_n - шарнір_m- Поліпептид 3_(c),

де n є цілим числом від нуля до 20, де m є цілим числом від 1 до 62 і де a, b і c є цілими числами, які дорівнюють щонайменше 1. Ці варіанти здійснення даного винаходу включають

20 вказані вище формули і будь-які їх варіанти і комбінації. Наприклад, послідовність поліпептидів в формулі також включає "Поліпептид 3_(c) -Поліпептид 1_(a)- Поліпептид 2_(b)», «Поліпептид 2_(b) - Поліпептид 3_(c)- Поліпептид 1_(a)», і будь-які їх варіанти і комбінації.

[0008] У деяких варіантах здійснення даного винаходу послідовність Поліпептиду 1 включає серпіновий поліпептид. Серпіни являють собою групу білків зі схожою структурою, уперше

25 ідентифіковану як групу білків, здатну інгібувати протеази. Серпінові білки, придатні для застосування в злитих білках, представлених в даній заявці, включають, але не обмежуються, наприклад, альфа-1-антитрипсином (AAT, alpha-1 antitrypsin), антитрипсин-спорідненим білком (SERPINA2), альфа-1-антихімотрипсином (SERPINA3), калістатином (SERPINA4), інгібітором еластази моноцитів/нейтрофілів (SERPINB1), PI-6 (SERPINB6), антитромбіном (SERPINC1),

30 інгібітором активатора плазміногена 1 (SERPINE1), альфа-2-антиплазміном (SERPINF2), інгібітором комплементу 1 (SERPING1) і нейросерпіном (SERPINI1).

[0009] У деяких варіантах здійснення даного винаходу послідовність Поліпептиду 1 включає поліпептидну послідовність альфа-1 антитрипсину (AAT) або амінокислотну послідовність, що

35 отримується з AAT. У деяких варіантах здійснення даного винаходу послідовність Поліпептиду 1 включає частину білка AAT. У деяких варіантах здійснення даного винаходу послідовність Поліпептиду 1 включає щонайменше частину петлі реакційного центра білка AAT. У деяких варіантах здійснення даного винаходу частина петлі реакційного центра білка AAT включає щонайменше амінокислотну послідовність: GTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNK SEQ ID NO: 1).

[00010] У переважному варіанті здійснення даного винаходу поліпептидна послідовність AAT

40 або амінокислотна послідовність, що отримується з AAT, є поліпептидною послідовністю людського AAT або походить з поліпептидною послідовності людського AAT.

[00011] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок включає повнорозмірну поліпептидну послідовність людського AAT з наступною амінокислотною послідовністю:

1 EDPQGDAAQK TDTSHHDQDH PTFNKITPNL AEFAFSLYRQ LAHQSNSTNI FFSPVSIATA

45 61 FAMLSTLGTKA DTHDEILEGL NFNLTIEPEA QIHEGFQELL RTLNQPDSQL QLTTGNGLFL

121 SEGLKLVDKF LEDVKKLYHS EAFTVNFGDT EEAKKQINDY VEKGTQGKIV DLVKELDRDT

181 VFALVNYIFF KGKWERPFV KDTEEDFHV DQVTTVKVPM MKRLGMFNIQ

HCKKLSSWVL

241 LMKYLGNATA IFFLPDEGKL QHLENELTHD IITKFLNED RRSASLHLPK LSITGTYDLK

50 301 SVLGQLGITK VFSNGADLSG VTEEAPLKLS KAVHKAVLT DEKGTEAAGA MFLEAIPMSI

361 PPEVKFNKPF VFLMIEQNTK SPLFMGKVVN PTQK (SEQ ID NO: 2)

[00012] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок включає поліпептидну послідовність людського AAT, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотної

55 послідовності SEQ ID NO: 2.

[00013] У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептидна послідовність AAT або амінокислотна послідовність, що отримується з поліпептиду AAT, є або походить з однієї або

60 більше поліпептидних послідовностей людського AAT з обліковими номерами в GenBank AAB59495.1, CAJ15161.1, P01009.3, AAB59375.1, AAA51546.1, CAA25838.1, NP_001002235.1, CAA34982.1, NP_001002236.1, NP_000286.3, NP_001121179.1, NP_001121178.1,

NP_001121177.1, NP_001121176.16, NP_001121175.1, NP_001121174.1, NP_001121172.1 і/або AAA51547.1.

[00014] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки містять одну або більше мутацій. Наприклад, злитий білок містить щонайменше одну мутацію залишку метіоніну (Met) в серпінній частині злитого білка. При таких мутаціях Met залишок Met може бути заміщений будь-якою амінокислотою. Наприклад, залишок Met може бути заміщений амінокислотою з гідрофобним бічним ланцюгом, таким як, наприклад, лейцин (Leu, L). Не бажаючи бути зв'язаними якою-небудь теорією, автори даного винаходу вважають, що мутація (мутації) Met запобігають окисненню і подальшій інактивації інгібіторної активності злитих білків даного винаходу. У деяких варіантах здійснення даного винаходу залишок Met може бути заміщений зарядженим залишком, таким як, наприклад, глутамат (Glu, E). У деяких варіантах здійснення даного винаходу мутація Met знаходиться в положенні 358 поліпептиду AAT. Наприклад, мутація Met є Met358Leu (M358L). У деяких варіантах здійснення даного винаходу мутація Met знаходиться в положенні 351 поліпептиду AAT. Наприклад, мутація Met є Met351Glu (M351E). У деяких варіантах здійснення даного винаходу мутації Met знаходяться в положеннях 351 і 358 поліпептиду AAT, наприклад, мутації Met є Met351Glu (M351E) і Met358Leu (M358L). Наприклад, петля реакційного центра такого варіанту злитого поліпептиду AAT має наступну послідовність: GTEAAGAEFLEAIPLSIPPEVKFNK (SEQ ID NO: 32). У деяких варіантах здійснення даного винаходу мутації Met знаходяться в положеннях 351 і 358 поліпептиду AAT, наприклад, мутації Met є Met351Leu (M351L) і Met358Leu (M358L). Наприклад, петля реакційного центра такого варіанту злитого поліпептиду AAT має наступну послідовність: GTEAAGALFLEAIPLSIPPEVKFNK (SEQ ID NO: 33).

[00015] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок включає повнорозмірну поліпептидну послідовність людського AAT, що містить варіант петлі реакційного центра, модифікований в положеннях M351 і M358, з наступною амінокислотною послідовністю:

```
1 EDPQGDAQK TDTSHHDQDH PTFNKITPNL AEFAFSLYRQ LAHQSNSTNI FFSPVSIATA
61 FAMLSTGKA DTHDEILEGL NFNLTIEPEA QIHEGFQELL RTLNQPDSQL QLTTGNGLFL
121 SEGLKLVDF LEDVKLYHS EAFVNFVGD TEEAKKQINDY VEKGTQGGKIV DLVKELDRDT
181 VFALVNYIFF KGKWERPFEV KDTEEDFHV DQVTTVKVPM MKRLGMFNIQ
HCKKLSSWVL
241 LMKYLGDATA IFFLPDEGKL QHLENELTHD IITKFLNED RRSASLHLPK LSITGTYDLK
301 SVLGQLGITK VFSNGADLSG VTEEAPLKLS KAVHKAVLT DEKGTEAAGA EFLEAIPLSI
361 PPEVKFNKPF VFLMIEQNTK SPLFMGKVVN PTQK (SEQ ID NO: 80)
```

[00016] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок включає поліпептидну послідовність людського AAT, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 80.

[00017] У деяких варіантах здійснення даного винаходу другий поліпептид (Поліпептид 2) серпінного злитого білка є поліпептидом Fc або є поліпептидом, що отримується з поліпептиду Fc. У даній заявці ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднують під назвою "злиті білки "серпін-Fc". Злиті білки "серпін-Fc", описані в даній заявці. Включають щонайменше серпінний поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпіну, і поліпептид Fc або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду Fc. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-Fc" включає єдиний серпінний поліпептид. В інших варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-Fc" включає декілька серпінних поліпептидів, і ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднують під назвою "злиті білки "серпін_(a')-Fc", де (a') є цілим числом, яке дорівнює щонайменше 2. В деяких варіантах здійснення даного винаходу всі серпінні поліпептиди в злитому білку "серпін_(a')-Fc" мають однакову амінокислотну послідовність. В інших варіантах здійснення даного винаходу кожний серпінний поліпептид в злитому білку "серпін_(a')-Fc" включає серпінні поліпептиди з різною амінокислотною послідовністю. Серпінні поліпептиди злитих білків "серпін_(a')-Fc" можуть розташовуватися в будь-якому положенні злитого білка.

[00018] У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпінний поліпептид злитого білка "серпін-Fc" включає щонайменше амінокислотну послідовність частини петлі реакційного центра білка AAT. У деяких варіантах здійснення даного винаходу частина петлі реакційного центра білка AAT включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпінний поліпептид злитого білка "серпін-Fc" включає щонайменше амінокислотну послідовність варіанту частини петлі реакційного центра білка AAT. У деяких варіантах здійснення даного винаходу варіант частини петлі реакційного центра білка AAT включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32 або SEQ ID NO: 33. У

деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-Fc" включає щонайменше повнорозмірну поліпептидну послідовність людського ААТ з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 2. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-Fc" включає щонайменше повнорозмірну

5 поліпептидну послідовність людського ААТ з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 80. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-Fc" включає поліпептидну послідовність людського ААТ, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 2 або 32, або 33, або 80.

10 [00019] У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-Fc" включає поліпептидну послідовність ААТ або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду ААТ, яка є або походить з однієї або більше поліпептидних послідовностей людського ААТ з обліковими номерами в GenBank AAB59495.1, CAJ15161.1, P01009.3, AAB59375.1, AAA51546.1, CAA25838.1, NP_001002235.1, CAA34982.1,

15 NP_001002236.1, NP_000286.3, NP_001121179.1, NP_001121178.1, NP_001121177.1, NP_001121176.16, NP_001121175.1, NP_001121174.1, NP_001121172.1 і/або AAA51547.1.

[00020] У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc злитого білка є поліпептидом людського Fc, наприклад, поліпептидною послідовністю Fc людського IgG або амінокислотною послідовністю, що отримується з поліпептидною послідовністю Fc людського

20 IgG. Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc є поліпептидом Fc людського IgG1 або амінокислотною послідовністю, що отримується з поліпептидною послідовністю Fc людського IgG1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc є поліпептидом Fc людського IgG2 або амінокислотною послідовністю, що отримується з поліпептидною послідовністю Fc людського IgG2. У деяких варіантах здійснення даного

25 винаходу поліпептид Fc є поліпептидом Fc людського IgG3 або амінокислотною послідовністю, що отримується з поліпептидною послідовністю Fc людського IgG3. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc є поліпептидом Fc людського IgG4 або амінокислотною послідовністю, що отримується з поліпептидною послідовністю Fc людського IgG4. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc є поліпептидом Fc людського IgM або амінокислотною послідовністю, що отримується з поліпептидною послідовністю Fc людського IgM.

[00021] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc злитого білка включає поліпептидну послідовність Fc людського IgG1 з наступною амінокислотною послідовністю:

35 1 APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK
61 PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
121 LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL
181 TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 3)

[00022] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, злитий білок включає шарнірну ділянку, злику з N-кінцем поліпептиду Fc злитого білка, де поліпептид Fc включає поліпептидну послідовність Fc людського IgG1 з наступною амінокислотною послідовністю:

40 1 DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
61 GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK
45 121 GQPREPQVYT LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
YKTTTPVLDS
181 DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 43)

[00023] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc злитого білка включає поліпептидну послідовність Fc людського IgG1, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 3 або 43.

[00024] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc мутований або модифікований для посилення зв'язування FcRn. У таких варіантах здійснення даного винаходу мутований або модифікований поліпептид Fc включає наступні мутації: Met252Tyr, Ser254Thr, Thr256Glu (M252Y, S256T, T256E) або Met428Leu і Asn434Ser (M428L, N434S), або Met428Val і Asn434Ser (M428V, N434S) із застосуванням системи нумерації за Kabat. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мутований або модифікований поліпептид Fc включає одну або більше мутацій, вибраних з

60 групи, яка складається з Met252Tyr (M252Y), Ser254Thr (S256T), Thr256Glu (T256E), Met428Leu

(M428L), Met428Val (M428V), Asn434Ser (N434S) і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу частина поліпептиду Fc мутувана або по-іншому модифікована для запобігання опосередкованої Fc димеризації. У цих варіантах здійснення даного винаходу злитий білок є мономерним в природі.

5 [00025] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc мутований або модифікований. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мутований або модифікований поліпептид Fc включає одну або більше мутацій в положенні, вибраному з M252, T246, M428 і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мутований або модифікований поліпептид Fc включає наступні мутації: Met252Ile, Thr256Asp, Met428Leu (M252I, T256D, M428L) із застосуванням системи нумерації за Kabat.

10 [00026] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG1, модифікований поліпептид Fc IgG1 злитого білка включає мутації в положеннях M252, T256 і M428, відповідним залишкам 22, 26 і 198 SEQ ID NO: 3 або залишкам 32, 36 і 208 SEQ ID NO: 43, вказаним вище, і має наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 APELLGGPSV FLFPPKPKDT LIISRDPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK
61 PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
121 LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL
20 181 TVDKSRWQQG NVFSCSVLHE ALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 44)

[00027] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG1, модифікований поліпептид Fc IgG1 злитого білка включає мутації в положеннях M252, T256 і M428, відповідним залишкам 22, 26, і 198 вказаної вище SEQ ID NO: 3 або залишкам 32, 36 і 208 вказаної вище SEQ ID NO: 43, і злитий білок включає щонайменше наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LIISRDPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
61 GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK
121 GQPREPQVYT LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
30 YKTTTPVLDS
181 DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVLHE ALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 45)

[00028] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG1, модифікований поліпептид Fc IgG1 злитого білка включає модифіковану поліпептидну послідовність Fc людського IgG1, в якій залишок G236, відповідний залишку 6 SEQ ID NO: 3 або залишку 16 SEQ ID NO: 43, вказаним вище, делетований, і має наступну амінокислотну послідовність:

1 APELLGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP
61 REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPA IEKTISKAKG QPREPQVYTL
121 PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDS DGSFFLYSKLT
40 181 VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 46)

[00029] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG1, модифікований поліпептид Fc IgG1 злитого білка включає модифіковану поліпептидну послідовність Fc людського IgG1, в якій залишок G236, відповідний залишку 6 SEQ ID NO: 3 або залишку 16 SEQ ID NO: 43, вказаним вище, делетований, і злитий білок включає щонайменше наступну амінокислотну послідовність:

1 DKTHTCPPCP APELLGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG
61 VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPA IEKTISKAKG
121 QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY
50 KTTTPVLDS
181 GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 47)

[00030] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG1, модифікований поліпептид Fc IgG1 злитого білка включає мутації залишків L234 і L235, відповідних залишкам 4 і 5 SEQ ID NO: 3 або залишкам 14 і 15 вказаної вище SEQ ID NO: 43, і має наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 APEVAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK
61 PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
121 LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL
60 181 TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 48)

[00031] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG1, модифікований поліпептид Fc IgG1 злитого білка включає мутації залишків L234 і L235, відповідних залишкам 4 і 5 SEQ ID NO: 3 або залишкам 14 і 15 SEQ ID NO: 43, вказаним вище, і злитий білок включає щонайменше наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

```
1 DKTHTCPPCP APEVAGGPSV FLPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
61 GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK
121 GQPREPQVYT LPPSRDELTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN
YKTTTPVLDS
```

```
181 DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 49)
```

[00032] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG1, модифікований поліпептид Fc IgG1 злитого білка включає делецію залишку G236 і мутації залишків L234 і L235, і злитий білок включає щонайменше наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

```
1 APEVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP
61 REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPA IEKTISKAKG QPREPQVYTL
121 PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNQQPENNY KTTTPVLDS GSFLLYSKLT
181 VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 50)
```

[00033] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG1, модифікований поліпептид Fc IgG1 злитого білка включає делецію залишку G236 і мутації залишків L234 і L235, і має наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

```
1 DKTHTCPPCP APEVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG
61 VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPA IEKTISKAKG
121 QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNQQPENNY
KTTTPVLDS
```

```
181 GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 51)
```

[00034] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG1, модифікований поліпептид Fc IgG1 злитого білка включає делецію залишку G236 і мутації залишків L234, L235, M252, T256 і M428, і злитий білок включає щонайменше наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

```
1 APEVAGPSVF LFPPKPKDTL IISRDPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP
61 REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPA IEKTISKAKG QPREPQVYTL
121 PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNQQPENNY KTTTPVLDS GSFLLYSKLT
181 VDKSRWQQGN VFSCSVLHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 52)
```

[00035] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG1, модифікований поліпептид Fc IgG1 злитого білка включає делецію залишку G236 і мутації залишків L234, L235, M252, T256 і M428, і має наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

```
1 DKTHTCPPCP APEVAGPSVF LFPPKPKDTL IISRDPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG
61 VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPA IEKTISKAKG
121 QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNQQPENNY
KTTTPVLDS
```

```
181 GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVLHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 53)
```

[00036] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG1, модифікований поліпептид Fc IgG1 злитого білка включає модифіковану поліпептидну послідовність Fc людського IgG1, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 або 53.

[00037] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc злитого білка включає поліпептидну послідовність Fc людського IgG2 з наступною амінокислотною послідовністю:

```
1 APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP
61 REEQFNSTFR VVSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNAKGLPA IEKTISKTKG QPREPQVYTL
```


121 PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPMLDSD
GSFFLYSKLT

181 VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 4)

[00038] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc злитого білка включає поліпептидну послідовність Fc людського IgG2, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 4.

[00039] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG2, модифікований поліпептид Fc IgG2 злитого білка включає модифіковану поліпептидну послідовність Fc людського IgG2 з наступною амінокислотною послідовністю, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 APPVAGPSVF LFPPKPKDTL IISRDPEVTC VVVDVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP

61 REEQFNSTFR VVSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNNKGLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL

121 PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPMLDSD
GSFFLYSKLT

181 VDKSRWQQGN VFSCSVLHEA LHNHYTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 54)

[00040] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG2, модифікований поліпептид Fc IgG2 злитого білка включає модифіковану поліпептидну послідовність Fc людського IgG2, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 54.

[00041] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc злитого білка включає поліпептидну послідовність Fc людського IgG3 з наступною амінокислотною послідовністю:

1 APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD GVEVHNAKTK

61 PREEQYNSTF RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT

121 LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESSGQPENN YNTTPMLDS
DGSFFLYSKL

181 TVDKSRWQQG NIFSCSVMHE ALHNRFTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 5)

[00042] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc злитого білка включає поліпептидну послідовність Fc людського IgG3, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 5.

[00043] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG3, модифікований поліпептид Fc IgG3 злитого білка включає модифіковану поліпептидну послідовність Fc людського IgG3 з наступною амінокислотною послідовністю, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 APELLGGPSV FLFPPKPKDT LIISRDPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD GVEVHNAKTK

61 PREEQYNSTF RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT

121 LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESSGQPENN YNTTPMLDS
DGSFFLYSKL

181 TVDKSRWQQG NIFSCSVLHE ALHNRFTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 55)

[00044] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG3, модифікований поліпептид Fc IgG3 злитого білка включає модифіковану поліпептидну послідовність Fc людського IgG3, в якій залишок G236, відповідний залишку 6 вказаної вище SEQ ID NO: 5 делетований і має наступну амінокислотну послідовність:

1 APELLGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVQFKWYVDG VEVHNAKTKP

61 REEQYNSTFR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNNKALPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL

121 PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESSGQPENNY NTTTPMLDSD
GSFFLYSKLT

181 VDKSRWQQGN IFSCSVMHEA LHNRFRTQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 56)

[00045] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG3, модифікований поліпептид Fc IgG3 злитого білка включає мутації залишків L234 і L235, відповідних залишкам 4 і 5 вказаної вище SEQ ID NO: 5 і має наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 APEVAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD GVEVHNAKTK

61 PREEQYNSTF RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT
 121 LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESSGQPENN YNTTPPMLDS
 DGSFFLYSKL

181 TVDKSRWQQG NIFSCSVMHE ALHNRFTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 57)

5 [00046] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG3, модифікований поліпептид Fc IgG3 злитого білка включає делецію залишку G236 і мутації залишків L234 і L235 і має наступну амінокислотну послідовність:

1 APEVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVQFKWYVDG VEVHNAKTKP

10 61 REEQYNSTFR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNNKALPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL

121 PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESSGQPENNY NTTPPMLDSD
 GSFFLYSKLT

181 VDKSRWQQGN IFSCSVMHEA LHNRFQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 58)

15 [00047] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG3, модифікований поліпептид Fc IgG3 злитого білка включає делецію залишку G236 і мутації залишків L234, L235, M252, T256 і M428 і має наступну амінокислотну послідовність:

1 APEVAGPSVF LFPPKPKDTL IISRDPEVTC VVVDVSHEDP EVQFKWYVDG VEVHNAKTKP

61 REEQYNSTFR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNNKALPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL

20 121 PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESSGQPENNY NTTPPMLDSD
 GSFFLYSKLT

181 VDKSRWQQGN IFSCSVLHEA LHNRFQKSL SLSPGK (SEQ ID NO: 59)

25 [00048] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG3, модифікований поліпептид Fc IgG3 злитого білка включає модифіковану поліпептидну послідовність Fc людського IgG3, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 55, 56, 57, 58 або 59.

30 [00049] У деяких варіантах здійснення даного винаходу ділянка Fc людського IgG3 модифікована в положенні Asn297 (нумерація за Kabat) для запобігання глікозилювання антитіла, напр., Asn297Ala (N297A). У деяких варіантах здійснення даного винаходу ділянка Fc людського IgG3 модифікована в положенні 435 для збільшення часу напіввиведення, напр., Arg435His (R435H). У деяких варіантах здійснення даного винаходу ділянка Fc людського IgG3 не містить Lys447 (індекс ЄС за Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest).

35 [00050] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc злитого білка включає поліпептидну послідовність Fc людського IgG4 з наступною амінокислотною послідовністю:

1 APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK

61 PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT

40 121 LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD
 DGSFFLYSRL

181 TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK (SEQ ID NO: 6)

45 [00051] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc злитого білка включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем поліпептиду Fc злитого білка, де поліпептид Fc включає поліпептидну послідовність Fc людського IgG4 з наступною амінокислотною послідовністю:

1 ESKYGPPCPS CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY

61 VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK

121 AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE
 NNYKTPPV

50 181 DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK (SEQ ID NO: 60)

55 [00052] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc злитого білка включає поліпептидну послідовність Fc людського IgG4, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 6 або 60.

60 [00053] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає мутації в положеннях M252, T256 і M428, відповідним залишкам 22, 26 і 197 SEQ ID NO: 6 або залишкам 34, 38 і 210 SEQ ID NO: 60, вказаним вище, і має наступну амінокислотну

послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LIISRDPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK
61 PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT
121 LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD
5 DGSFFLYSRL

181 TVDKSRWQEG NVFSCSVLHE ALHNHYTQKS LSLSLGK (SEQ ID NO: 61)

[00054] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає мутації в положеннях M252, T256 і M428, відповідним залишкам 22, 26, і 197 SEQ ID NO: 6 або залишкам 34, 38 і 210 SEQ ID NO: 60, вказаним вище, і злитий білок включає щонайменше наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 ESKYGPPCPS CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLIISRDPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY
61 VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK
15 121 AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE
NNYKTPPVVL

181 DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVL HEALHNHYTQ KSLSLSLGK (SEQ ID NO: 62)

[00055] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає модифіковану поліпептидну послідовність Fc людського IgG4, в якій залишок G236, відповідний залишку 6 SEQ ID NO: 6 або залишку 19 SEQ ID NO: 60, вказаним вище, делетований, і має наступну амінокислотну послідовність:

1 APEFLGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSQEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP
25 61 REEQFNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPSS IEKTISKAKG QPREPQVYTL
121 PPSQEEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNQGPENNY KTPPVLDSD
GSFFLYSRLT

181 VDKSRWQEGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSLGLK (SEQ ID NO: 63)

[00056] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає модифіковану поліпептидну послідовність Fc людського IgG4, в якій залишок G236, відповідний залишку 6 SEQ ID NO: 6 або залишку 19 SEQ ID NO: 60, вказаним вище, делетований, і злитий білок включає щонайменше наступну амінокислотну послідовність:

1 ESKYGPPCPS CPAPEFLGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV
35 61 DGVEVHNAK KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA
121 KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN
NYKTPPVLD

181 SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLGLK (SEQ ID NO: 64)

[00057] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає мутацію залишку L235, відповідного залишку 5 вказаної вище SEQ ID NO: 6 або залишку 17 вказаної вище SEQ ID NO: 60, і має наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 APEFEGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK
45 61 PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT
121 LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSD
DGSFFLYSRL

181 TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK (SEQ ID NO: 65)

[00058] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає мутацію залишку L235, відповідного залишку 5 вказаної вище SEQ ID NO: 6 або залишку 17 вказаної вище SEQ ID NO: 60, і злитий білок включає щонайменше наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 ESKYGPPCPS CPAPEFEGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY
50 61 VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK
121 AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE
NNYKTPPVVL

181 DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK (SEQ ID NO: 66)

66)

[00059] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає мутації залишків L234 і L235, відповідних залишкам 4 і 5 вказаної вище SEQ ID NO: 6 або залишкам 16 і 17 вказаної вище SEQ ID NO: 60, і має наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 APEVAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK
61 PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT
121 LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS
DGSFFLYSRL

181 TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK (SEQ ID NO: 67)

[00060] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає мутації залишків L234 і L235, відповідних залишкам 4 і 5 вказаної вище SEQ ID NO: 6 або залишкам 16 і 17 вказаної вище SEQ ID NO: 60, і злитий білок включає щонайменше наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 ESKYGPPCPS CPAPEVAGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVVSQ EDPEVQFNWY
61 VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK
121 AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE
NNYKTTTPVL

181 DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK (SEQ ID NO: 68)

[00061] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає мутацію залишку S228, відповідного залишку 10 вказаної вище SEQ ID NO: 60, і має наступну амінокислотну послідовність, в якій мутований амінокислотний залишок обведений рамкою:

1 ESKYGPPCPP CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVVSQ EDPEVQFNWY
61 VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK
121 AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE
NNYKTTTPVL

181 DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK (SEQ ID NO: 69)

[00062] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає мутації залишків S228 і L235, відповідних залишкам 10 і 17 вказаної вище SEQ ID NO: 60, і злитий білок включає щонайменше наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 ESKYGPPCPP CPAPEFEGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVVSQ EDPEVQFNWY
61 VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK
121 AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE
NNYKTTTPVL

181 DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSLGK (SEQ ID NO: 70)

[00063] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає мутації в положеннях L235, M252, T256 і M428, відповідні залишкам 5, 22, 26 і 197 SEQ ID NO: 6 або залишкам 17, 34, 38 і 210 вказаної вище SEQ ID NO: 60, і має наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 APEFEGGPSV FLFPPKPKDT LIISRDPPEVT CVVVDVVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK
61 PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT
121 LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS
DGSFFLYSRL

181 TVDKSRWQEG NVFSCSVLHE ALHNHYTQKS LSLSLGK (SEQ ID NO: 71)

[00064] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає мутації в положеннях L235, M252, T256 і M428, відповідних залишкам 5, 22, 26 і 197 вказаної вище SEQ ID NO: 6 або залишкам 17, 34, 38 і 210 вказаної вище SEQ ID NO: 60, і злитий білок включає щонайменше наступну

амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 ESKYGPPCPS CPAPEFEGGP SVFLFPPKPK DTLIISRDPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY
61 VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK
121 AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE
5 NNYKTTTPVL

181 DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVL HEALHNHYTQ KSLSLSLGK (SEQ ID NO: 72)

[00065] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає шарнірну ділянку, зв'язану з N-кінцем модифікованого поліпептиду Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає мутації в положеннях S228, L235, M252, T256 і M428, відповідних залишкам 10, 17, 34, 38 і 210 вказаної вище SEQ ID NO: 60, і злитий білок включає щонайменше наступну амінокислотну послідовність, в якій мутовані амінокислотні залишки обведені рамками:

1 ESKYGPPCPS CPAPEFEGGP SVFLFPPKPK DTLIISRDPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY
15 61 VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK
121 AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE
NNYKTTTPVL

181 DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSVL HEALHNHYTQ KSLSLSLGK (SEQ ID NO: 73)

20 [00066] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає модифікований поліпептид Fc IgG4, модифікований поліпептид Fc IgG4 злитого білка включає модифіковану поліпептидну послідовність Fc людського IgG4, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69,
25 70, 71, 72 або 73.

[00067] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc злитого білка включає поліпептидну послідовність Fc людського IgM з наступною амінокислотною послідовністю:

1 IAEPPKVSFV FVPPRDGFFG NPRKSKLICQ ATGFSPRQIQ VSWLREGKQV GSGVTDDQVQ
30 61 AEAKESGPTT YKVTSTLTIK ESDWLQGSMT TCRVDHRGLT FQQNASSMCV PDQDITAIRVF
121 AIPPSFASIF LTKSTKLTLCL VTDLTYYDSV TISWTRQNGE AVKTHNTISE SHPNATFSAV
181 GEASICEDDW NSGERFTCTV THTDLPSPLK QTISRPKG (SEQ ID NO: 7)

[00068] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc злитого білка включає поліпептидну послідовність Fc людського IgM, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 7.

[00069] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-Fc" включає щонайменше амінокислотну послідовність частини петлі реакційного центра білка ААТ, функціонально зв'язану з поліпептидною послідовністю Fc, яка включає або походить з амінокислотної послідовності будь-якої з SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 або 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc включає амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яка складається з 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 і 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc включає амінокислотну послідовність, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 і 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу частина петлі реакційного центра білка ААТ включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпінний поліпептид і поліпептид Fc функціонально зв'язані через лінкерну ділянку, наприклад, гліцин-сериновий лінкер або лінкер на основі гліцину-серину. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпінний поліпептид і поліпептид Fc функціонально зв'язані через шарнірну ділянку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпінний поліпептид і поліпептид Fc функціонально зв'язані через лінкерну ділянку і шарнірну ділянку. В інших варіантах здійснення даного винаходу серпінний поліпептид і поліпептид Fc зв'язані напрому.

[00070] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-Fc" включає щонайменше амінокислотну послідовність варіанту частини петлі реакційного центра білка ААТ,

функціонально зв'язану з поліпептидною послідовністю Fc, яка включає або походить з амінокислотної послідовності будь-якої з SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 або 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc включає амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яка складається з 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 і 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc включає амінокислотну послідовність, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 і 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу варіант частини петлі реакційного центра білка ААТ включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32 або SEQ ID NO: 33. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc функціонально зв'язані через лінкерну ділянку, наприклад, гліцин-сериновий лінкер або лінкер на основі гліцину-серину. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc функціонально зв'язані через шарнірну ділянку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc зв'язані через лінкерну ділянку і шарнірну ділянку. В інших варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc зв'язані напряду.

[00071] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-Fc" включає щонайменше амінокислотну послідовність варіанту частини петлі реакційного центра білка ААТ, функціонально зв'язану з поліпептидною послідовністю Fc, яка включає або походить з амінокислотної послідовності будь-якої з SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 або 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc включає амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яка складається з 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 і 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-Fc" включає поліпептидну послідовність людського ААТ, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 2, функціонально зв'язану з поліпептидною послідовністю Fc, яка включає або походить з амінокислотної послідовності будь-якої з SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 або 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc включає амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яка складається з 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 і 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc включає амінокислотну послідовність, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності, вибраній з групи, яка складається з 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 і 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc функціонально зв'язані через лінкерну ділянку, наприклад, гліцин-сериновий лінкер або лінкер на основі гліцину-серину. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc функціонально зв'язані через шарнірну ділянку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc функціонально зв'язані через лінкерну ділянку і шарнірну ділянку. В інших варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc зв'язані напряду.

[00072] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-Fc" включає щонайменше повнорозмірну поліпептидну послідовність людського ААТ з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 80, функціонально зв'язану з поліпептидною послідовністю Fc, яка включає або походить з амінокислотної послідовності будь-якої з SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 або 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-Fc" включає поліпептидну послідовність людського ААТ, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 80, функціонально зв'язану з поліпептидною

послідовністю Fc, яка включає або походить з амінокислотної послідовності будь-якої з SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 або 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc функціонально зв'язані через лінкерну ділянку, наприклад, гліцин-сериновий лінкер або лінкер на основі гліцину-серину. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc функціонально зв'язані через шарнірну ділянку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc функціонально зв'язані через лінкерну ділянку і шарнірну ділянку. В інших варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і поліпептид Fc зв'язані напряду.

[00073] У деяких варіантах застосування злитих білків, представлених в даній заявці, другий поліпептид (Поліпептид 2) серпінового злитого білка є поліпептидом, що діє на цитокін, або є поліпептидом, що отримується з поліпептиду, що діє на цитокін. Ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднані в даній заявці під назвою "злиті білки "серпін-діючий на цитокіни поліпептид". Злиті білки "серпін-діючий на цитокіни поліпептид", описані в даній заявці, включають щонайменше серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, яку отримують з серпінового поліпептиду і поліпептиду, що діє на цитокіни, або їх похідні. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" включає єдиний серпіновий поліпептид. В інших варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" включає декілька серпінових поліпептидів, і ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднують в даній заявці під назвою "злиті білки "серпін_(a')-діючий на цитокіни поліпептид»», де (a') є цілим числом, що дорівнює щонайменше 2. В деяких варіантах здійснення даного винаходу всі серпінові поліпептиди в злитому білку "серпін_(a')-діючий на цитокіни поліпептид" мають однакову амінокислотну послідовність. В інших варіантах здійснення даного винаходу кожний серпіновий поліпептид в злитому білку "серпін_(a')-діючий на цитокіни поліпептид" включає серпінові поліпептиди з різними амінокислотними послідовностями.

[00074] У деяких варіантах здійснення даного винаходу діючий на цитокіни поліпептид або злитий білок "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" є цитокіновим рецептором або походить з цитокінового рецептора. У переважному варіанті здійснення даного винаходу діючий на цитокіни поліпептид або амінокислотна послідовність, що отримується з цитокінового рецептора, є або походить з послідовності людського цитокінового рецептора. В інших варіантах здійснення даного винаходу діючий на цитокіни поліпептид є антитілом або фрагментом антитіла, наприклад, антитілом до цитокіну або фрагментом антитіла до цитокіну. У переважному варіанті здійснення даного винаходу діючий на цитокіни поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з антитіла або фрагмента антитіла, отримують з послідовності химерного, гуманізованого або повністю людського антитіла. Термін "фрагмент антитіла" включає однокланове антитіло, Fab-фрагмент, F(ab')₂-фрагмент, scFv, scAb, dAb, однодомне антитіло на основі важкого ланцюга і однодомне антитіло на основі легкого ланцюга.

[00075] В інших варіантах здійснення даного винаходу діючий на цитокіни поліпептид зв'язує цитокіновий рецептор і запобігає зв'язуванню цитокіну з рецептором. В інших варіантах здійснення даного винаходу діючий на цитокіни поліпептид є антитілом або фрагментом антитіла, наприклад, антитілом до рецептору цитокіну або фрагментом антитіла до рецептору цитокіну.

[00076] У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитих білків "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" включає щонайменше амінокислотну послідовність частини петлі реакційного центра білка AAT. У деяких варіантах здійснення даного винаходу частина петлі реакційного центра білка AAT включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитих білків "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" включає щонайменше амінокислотну послідовність варіанту частини петлі реакційного центра білка AAT. У деяких варіантах здійснення даного винаходу варіант частини петлі реакційного центра білка AAT включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32 або SEQ ID NO: 33. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" включає або походить з щонайменше повнорозмірною поліпептидною послідовністю людського AAT з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 2. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" включає або походить з щонайменше повнорозмірною поліпептидною послідовністю людського AAT з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 80. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" включає поліпептидну послідовність людського AAT, яка щонайменше на

50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 2 або 32, або 33, або 80.

[00077] У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" включає поліпептидну послідовність AAT або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду AAT, яка є або походить з однієї або більше поліпептидних послідовностей людського AAT, що мають облікові номери в GenBank AAB59495.1, CAJ15161.1, P01009.3, AAB59375.1, AAA51546.1, CAA25838.1, NP_001002235.1, CAA34982.1, NP_001002236.1, NP_000286.3, NP_001121179.1, NP_001121178.1, NP_001121177.1, NP_001121176.16, NP_001121175.1, NP_001121174.1, NP_001121172.1 і/або AAA51547.1.

[00078] Злитий білок "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" може містити частину злитого білка "серпін-Fc". Наприклад, антитіло містить поліпептид Fc. Таким чином, в деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких діючий на цитокіни поліпептид є антитілом до цитокіну, злитий білок "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" буде включати частину злитого білка "серпін-Fc". Також більшість рецепторних злитих білків, що застосовуються в терапевтичних цілях, є злитими з Fc білками. Таким чином, в деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" є злитим білком "серпін-рецептор цитокіну", злитий білок "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" може включати поліпептид Fc в доповнення до серпінової частини і частини рецептора цитокіну.

[00079] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" включає поліпептидну послідовність Fc, поліпептидна послідовність Fc включає або походить з амінокислотної послідовності будь-якої з SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 або 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" включає поліпептидну послідовність Fc, поліпептидна послідовність Fc щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична будь-якій з амінокислотних послідовностей SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 або 73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і діючий на цитокіни поліпептид функціонально зв'язані через лінкерну ділянку, наприклад, через гліцин-сериновий лінкер або лінкер на основі гліцину-серину. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і діючий на цитокіни поліпептид функціонально зв'язані через шарнірну ділянку. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і діючий на цитокіни поліпептид функціонально зв'язані через лінкерну ділянку і шарнірну ділянку. В інших варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид і діючий на цитокіни поліпептид зв'язані напряму.

[00080] У деяких варіантах застосування злитих білків, представлених в даній заявці, другий поліпептид (Поліпептид 2) серпінового злитого білка є поліпептидом, що містить домен WAP (whey acidic protein, кислий білок сироватки), або амінокислотною послідовністю, що отримується з поліпептиду, що містить домен WAP. Ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднані в даній заявці під загальною назвою "злиті білки "серпін-домен WAP»». Злиті білки "серпін-домен WAP" включають щонайменше серпіновий поліпептид або щонайменше амінокислотну послідовність, що отримується з серпіну, поліпептид, що містить домен WAP або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду, що містить домен WAP. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-домен WAP" включає єдиний серпіновий поліпептид. В інших варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-діючий на WAP поліпептид" включає декілька серпінових поліпептидів. Ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднані в даній заявці під загальною назвою "злиті білки "серпін_(a)-домен WAP»», де (a) є цілим числом, що дорівнює щонайменше 2. В деяких варіантах здійснення даного винаходу серпінові поліпептиди злитого білка "серпін_(a)-домен WAP" мають однакову амінокислотну послідовність. В інших варіантах здійснення даного винаходу серпінові поліпептиди злитого білка "серпін_(a)-діючий на цитокіни поліпептид" включають серпінові поліпептиди з різними амінокислотними послідовностями.

[00081] Ці злиті білки "серпін_(a)-домен WAP" включають поліпептид, що містить домен WAP, або поліпептидну послідовність, яка є або походить з поліпептиду, що містить домен WAP. Домен WAP являє собою мотив з еволюційно консервативною послідовністю з 50 амінокислот, що містить вісім цистеїнів, розташованих у вигляді характерної структури з 4 дисульфідними зв'язками (що також називається коровим мотивом з 4 дисульфідними зв'язками). Мотив з послідовністю домену WAP являє собою функціональний мотив, що характеризується інгібуючою серинові протеази активністю в ряді білків.

[00082] Поліпептиди, що містять домен WAP, відповідні для застосування в злитих білках, представлених в даній заявці, включають, але не обмежуються, наприклад, секреторним інгібітором лейкоцитарних протеаз (SLPI, secretory leukocyte protease inhibitor), елафіном (Elafin) і епіном (Eppin).

[00083] У деяких варіантах здійснення даного винаходу послідовність поліпептиду, що містить домен WAP, злитого білка включає поліпептидну послідовність секреторного інгібітора лейкоцитарних протеаз (SLPI) або амінокислотну послідовність, що отримується з SLPI. Ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднані в даній заявці під загальною назвою "злиті білки, що отримуються з "серпіну-SLPI". У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептидна послідовність SLPI містить частину білка SLPI, таку як, наприклад, домен WAP2 або його частину. У переважному варіанті здійснення даного винаходу поліпептидна послідовність SLPI або амінокислотна послідовність, та, що отримується з SLPI є або походить з поліпептидної послідовності людського SLPI.

[00084] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-SLPI" даного винаходу послідовність SLPI або послідовність, що отримується з SLPI, злитого білка включає повнорозмірну поліпептидну послідовність людського SLPI з наступною амінокислотною послідовністю:

1 MKSSGLFPFL VLLALGTLAP WAVEGSGKSF KAGVCPPKKS AQCLRYKKPE CQSDWQCPGK
61 KRCCPDTGCI KCLDPVDTN PTRRKPGKCP VTYGQCLMLN PPNFCMDGQ

CKRDLKCCMG

121 MCGKSCVSPV KA (SEQ ID NO: 8)

[00085] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-SLPI" даного винаходу послідовність SLPI або послідовність, що отримується з SLPI, злитого білка включає повнорозмірну поліпептидну послідовність людського SLPI, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 8.

[00086] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-SLPI" даного винаходу послідовність SLPI або послідовність, що отримується з SLPI, злитого білка включає частину повнорозмірної поліпептидної послідовності людського SLPI з наступною амінокислотною послідовністю:

1 SGKSFKAGVC PPKKSAQCLR YKKPECQSDW QCPGKKRCCP DTCGIKCLDP VDTPNPTRRK
61 PGKCPVTYGG CLMLNPPNFC EMDGQCKRDL KCCMGMCCKS CVSPVKA (SEQ ID NO: 9)

[00087] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-SLPI" даного винаходу послідовність SLPI або послідовність, що отримується з SLPI, злитого білка включає поліпептидну послідовність людського SLPI, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 9.

[00088] У деяких варіантах застосування злитого білка "серпін-SLPI" даного винаходу послідовність SLPI або послідовність, що отримується з SLPI, злитого білка включає домен WAP2 повнорозмірної поліпептидної послідовності людського SLPI з наступною амінокислотною послідовністю домену WAP2:

1 TRRKPGKCPV TYGQCLMLNP PNFCEMDGQC KRDLKCCMGGM CGKSCVSPVK A (SEQ ID NO: 10)

[00089] У деяких варіантах застосування злитого білка "серпін-SLPI" даного винаходу послідовність SLPI або послідовність, що отримується з SLPI, злитого білка включає поліпептидну послідовність людського SLPI, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 10.

[00090] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-SLPI" даного винаходу поліпептидна послідовність SLPI або амінокислотна послідовність, що отримується з поліпептиду SLPI, є або походить з однієї або більше поліпептидних послідовностей людського SLPI, що мають облікові номери в GenBank CAA28187.1, NP_003055.1, EAW75869.1, P03973.2, AAN20708.1, CAB64235.1, CAA28188.1, AAD19661.1 і/або BAG35125.1.

[00091] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-SLPI" даного винаходу поліпептидна послідовність SLPI або послідовність, що отримується з SLPI, злитого білка включає поліпептидну послідовність людського SLPI, модифіковану по залишку метіоніну (Met). При таких мутаціях Met залишок Met може бути заміщений будь-якою амінокислотою. Наприклад, залишок Met може бути заміщений амінокислотою з гідрофобним бічним ланцюгом, таким як, наприклад, лейцин (Leu, L) або валін (Val, V). Не бажаючи бути зв'язаними якою-небудь теорією, автори даного винаходу вважають, що мутація (мутації) Met запобігають

окисненню і подальшій інактивації інгібіторної активності злитих білків даного винаходу. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мутація Met знаходиться в положенні 98 поліпептиду SLPI. Наприклад, модифікована поліпептидна послідовність SLPI "серпіну-SLPI" містить мутацію M98L або M98V в SEQ ID NO: 8.

5 [00092] В інших варіантах здійснення даного винаходу, поліпептидна послідовність, що містить домен WAP, злитого білка включає поліпептидну послідовність елафіну або амінокислотну послідовність, що отримується з елафіну. Ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднані в даній заявці під загальною назвою "злиті білки "серпін-елафін"». У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептидна послідовність елафіну включає частину 10 білка елафіну, таку як, наприклад, домен WAP або його частину. У переважному варіанті здійснення даного винаходу поліпептидна послідовність елафіну або амінокислотна послідовність, що отримується з елафіну, є або походить з поліпептидної послідовності елафіну людини.

15 [00093] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-елафін" злитий білок включає повнорозмірну поліпептидну послідовність елафіну людини з наступною амінокислотною послідовністю:

1 MRASSFLIVV VFLIAGTLVL EAAVTGVPVK GQDTVKGVRP FNGQDPVKGQ VSVKGQDKVK
61 AQEPVKGPVS TKPGSCPIIL IRCAMLNPPN RCLKDTCPPG IKKCEGSCG MACFVPQ
(SEQ ID NO: 11)

20 [00094] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-елафін" злитий білок включає повнорозмірну поліпептидну послідовність елафіну людини, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 11.

25 [00095] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-елафін" злитий білок включає частину повнорозмірної поліпептидної послідовності елафіну людини з наступною амінокислотною послідовністю:

1 AVTGVVPVKGQ DTVKGRVPFN GQDPVKGQVS VKGQDKVKAQ EPVKGPVSTK PGSCPIILIR
61 CAMLNPPNRC LKDTDCPGIK KCEGSCGMA CFVPQ (SEQ ID NO: 12)

30 [00096] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-елафін" злитий білок включає поліпептидну послідовність елафіну людини, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 12.

[00097] У деяких варіантах злитих білків "серпін-елафін" злитий білок включає домен WAP повнорозмірної поліпептидної послідовності елафіну людини з наступною амінокислотною послідовністю:

1 VSTKPGSCPI ILIRCAMLNP PNRCLKDTCDC PGIKKCEGS CGMACFVPQ (SEQ ID NO: 13)

40 [00098] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-елафін" злитий білок включає поліпептидну послідовність елафіну людини, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 13.

45 [00099] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-елафін" поліпептидну послідовність елафіну або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду елафіну, отримують з однієї або більше поліпептидних послідовностей елафіну людини, що мають облікові номери в GenBank P19957.3, NP_002629.1, BAA02441.1, EAW75814.1, EAW75813.1, Q8IUB2.1 і/або NP_542181.1.

[000100] В інших варіантах здійснення даного винаходу поліпептидна послідовність, що містить домен WAP, злитого білка включає поліпептидну послідовність епіну або амінокислотну послідовність, що отримується з епіну. Ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднані в даній заявці під загальною назвою "злиті білки "серпін_(a)-епін". В деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептидна послідовність епіну злитого білка "серпін-епін" включає частину білка епіну, таку як, наприклад, домен WAP або його частина. В переважному варіанті здійснення даного винаходу поліпептидна послідовність епіну або амінокислотна послідовність, що отримується з епіну, є або походить з поліпептидної послідовності епіну людини.

50 [000101] У деяких варіантах застосування злитих білків "серпін-епін" поліпептидна послідовність епіну або амінокислотна послідовність, що отримується з поліпептиду епіну, є або походить з однієї або більше поліпептидних послідовностей епіну людини, що мають облікові номери в GenBank O95925.1, NP_065131.1, AAN44829.2, AAN53369.1, AAG00548.1, AAG00547.1 і/або AAG00546.1.

60 [000102] У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-домен WAP" включає щонайменше амінокислотну послідовність частини петлі

реакційного центра білка AAT. У деяких варіантах здійснення даного винаходу частина петлі реакційного центра білка AAT включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-домен WAP" включає щонайменше амінокислотну послідовність варіанту частини петлі реакційного центра білка AAT. У деяких варіантах здійснення даного винаходу варіант частини петлі реакційного центра білка AAT включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32 або SEQ ID NO: 33. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-домен WAP" включає щонайменше повнорозмірну поліпептидну послідовність людського AAT з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 2. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" включає або походить з щонайменше повнорозмірної поліпептидної послідовності людського AAT з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 80. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-домен WAP" включає поліпептидну послідовність людського AAT, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 2 або 32, або 33, або 80.

[000103] У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-домен WAP" включає поліпептидну послідовність AAT або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду AAT, які отримують з однієї або більше поліпептидних послідовностей людського AAT з обліковими номерами в GenBank AAB59495.1, CAJ15161.1, P01009.3, AAB59375.1, AAA51546.1, CAA25838.1, NP_001002235.1, CAA34982.1, NP_001002236.1, NP_000286.3, NP_001121179.1, NP_001121178.1, NP_001121177.1, NP_001121176.16, NP_001121175.1, NP_001121174.1, NP_001121172.1 і/або AAA51547.1.

[000104] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-домен WAP" також може включати поліпептид Fc або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду Fc. Ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднані в даній заявці під загальною назвою "злиті білки "серпін-Fc-домен WAP»». У цих варіантах здійснення даного винаходу цей термін не обмежує конкретний порядок. Наприклад, послідовність злитого білка може бути "серпін-Fc-домен WAP", "серпін-домен WAP-Fc" або будь-яким варіантом їх комбінації. Злиті білки "серпін-Fc-домен WAP", описані в даній заявці, включають щонайменше серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпіну, поліпептид, що містить домен WAP, або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду, що містить домен WAP, і поліпептид Fc або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду Fc.

[000105] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок "серпін-домен WAP" включає поліпептидну послідовність Fc, поліпептидна послідовність Fc може мати амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 3-7 і 43-73. В інших варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок "серпін-домен WAP" включає поліпептидну послідовність Fc, поліпептидна послідовність Fc щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO 3-7 і 43-73. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок "серпін-домен WAP" може також включати альбуміновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з альбумінового поліпептиду. Ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднані в даній заявці під загальною назвою "злиті білки "серпін-альбумін-домен WAP". У цих варіантах здійснення даного винаходу цей термін не обмежує конкретний порядок. Наприклад, послідовність злитого білка може бути "серпін-альбумін-домен WAP", "серпін-домен WAP-альбумін" або будь-яким варіантом їх комбінації. Злиті білки "серпін-альбумін-домен WAP", описані в даній заявці, включають щонайменше серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпіну, поліпептид, що містить домен WAP, або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду, що містить домен WAP, і альбуміновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з альбумінового поліпептиду.

[000106] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок "серпін-домен WAP" включає поліпептидну послідовність альбуміну, поліпептидна послідовність альбуміну включає амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14-15, описану в даній заявці. В інших варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок "серпін-домен WAP" включає поліпептидну послідовність альбуміну, поліпептидна послідовність альбуміну щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична будь-якій з амінокислотних послідовностей SEQ ID NO: 14 або 15.

[000107] У деяких варіантах здійснення даного винаходу другий поліпептид (Поліпептид 2) серпінового злитого білка є альбуміновим поліпептидом або походить з альбумінового

поліпептиду. Ці варіанти здійснення даного винаходу об'єднані в даній заявці під загальною назвою "злиті білки "серпін_(a)-альбумін". Злиті білки "серпін-альбумін", описані в даній заявці, включають щонайменше серпінний поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпіну, і альбуміновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з альбумінового поліпептиду. Додатково, даний винахід стосується злитих білків "серпін-зв'язувальний альбумін поліпептид", в якого альбумін функціонально зв'язаний з серпіном через проміжну зв'язувальну молекулу. В даній заявці серпін нековалентно або ковалентно зв'язаний з людським сироватковим альбуміном (HSA, human serum albumin).

[000108] У варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептидну послідовність альбуміну, поліпептидна послідовність альбуміну злитого білка є поліпептидом людського сироваткового альбуміну або амінокислотною послідовністю, що отримується з людського сироваткового альбуміну. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок включає поліпептидну послідовність людського сироваткового альбуміну з наступною амінокислотною послідовністю:

DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQQCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCCKS
LHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECF LQHKDDNP NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNE
ETFLKKYLYEIIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFECCQAADKAACLLPKLDEL RDEGKASSAKQRLK
CASLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLT KVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICE
NQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLP SLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY EY
ARRHPDYSVVLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNC ELFQ LGEYK
FQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPV
SDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPK
ATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKADDKETCFAEEGKKLV AASQAALGL (SEQ ID NO: 14)

[000109] У варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептидну послідовність альбуміну, поліпептидну послідовність альбуміну злитого білка включає поліпептидну послідовність людського сироваткового альбуміну, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 14.

[000110] У варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептидну послідовність альбуміну, поліпептидну послідовність альбуміну злитого білка включає домен 3 поліпептидною послідовності людського сироваткового альбуміну з наступною амінокислотною послідовністю:

E EEPQNLIKQNC ELFQ LGEYK FQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCCKHPEAKR
MPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADI
CTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCCKADDKETCFAEEGKKLVA
(SEQ ID NO: 15)

[000111] У варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептидну послідовність альбуміну, поліпептидну послідовність альбуміну злитого білка включає поліпептидну послідовність людського сироваткового альбуміну, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 15.

[000112] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептидну послідовність альбуміну, злитий білок зв'язаний з людським сироватковим альбуміном через проміжний альбумін-зв'язувальний поліпептид. Альбумін-зв'язувальний поліпептид може бути антитілом або фрагментом антитіла або може бути отриманий з антитіла або фрагмента антитіла. У переважному варіанті здійснення даного винаходу альбумін-зв'язувальний поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з антитіла або з фрагмента антитіла, отримують з послідовності химерного, гуманізованого або повністю людського антитіла. Термін "фрагмент антитіла" включає однокланове антитіло, Fab-фрагмент, F(ab)₂-фрагмент, scFv, scAb, dAb і одноклановий важкий ланцюг антитіла і одноклановий легкий ланцюг антитіла. Додатково, альбумін-зв'язувальний поліпептид може бути альбумін-зв'язувальним пептидом. Іншим варіантом здійснення даного винаходу є злитий з серпіном альбумін-зв'язувальний поліпептид, в якому альбумін-зв'язувальний поліпептид є доменом 3 стрептококового білка G або послідовністю, що отримується з домену 3 стрептококового білка G.

[000113] У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпінний поліпептид злитих білків "серпін_(a)-альбумін" включає щонайменше амінокислотну послідовність частини петлі реакційного центра білка AAT. В деяких варіантах здійснення даного винаходу частина петлі реакційного центра білка AAT включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 1. В деяких варіантах здійснення даного винаходу серпінний поліпептид злитих білків "серпін-

альбумін" включає щонайменше амінокислотну послідовність варіанту частини петлі реакційного центра білка ААТ. В деяких варіантах здійснення даного винаходу варіант частини петлі реакційного центра білка ААТ включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32 або SEQ ID NO: 33. В деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитих білків "серпін-альбумін" включає щонайменше поліпептидну послідовність повнорозмірного людського ААТ з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 2. В деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-діючий на цитокін поліпептид" включає або походить з щонайменше повнорозмірної поліпептидної послідовності людського ААТ з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO: 80. В деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитого білка "серпін-альбумін" включає поліпептидну послідовність людського ААТ, яка щонайменше на 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO: 2 або 32, або 33, або 80.

[000114] У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпіновий поліпептид злитих білків "серпін-альбумін" включає поліпептидну послідовність ААТ або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду ААТ, що є або отримується з однієї або більше поліпептидних послідовностей людського ААТ з обліковими номерами в GenBank AAB59495.1, CAJ15161.1, P01009.3, AAB59375.1, AAA51546.1, CAA25838.1, NP_001002235.1, CAA34982.1, NP_001002236.1, NP_000286.3, NP_001121179.1, NP_001121178.1, NP_001121177.1, NP_001121176.16, NP_001121175.1, NP_001121174.1, NP_001121172.1 і/або AAA51547.1.

[000115] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки модифіковані для підвищення або іншого інгібування протеолітичного розщеплення, наприклад, за допомогою мутації одного або більше сайтів протеолітичного розщеплення. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки модифіковані для зміни або іншої модуляції ефекторної функції Fc злитого білка, при одночасному збереженні зв'язувальної і інгібуючої функції в порівнянні з незмінним злитим білком. Ефекторні функції Fc включають, але не обмежуються, наприклад, зв'язуванням Fc-рецептора, запобіганням вивільненню прозапального медіатора при зв'язуванні Fc-рецептора, фагоцитозом, модифікованою антитілозалежною клітинноопосередкованою цитотоксичністю, модифікованої комплементзалежною цитотоксичністю, модифікованим глікозилюванням залишку Asn297 (індекс ЄС нумерації за Kabat, Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest) поліпептиду Fc. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки мутовані або по-іншому модифіковані для регуляції зв'язування Fc-рецептора. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc модифікований для посилення зв'язування FcRn. Прикладами мутацій поліпептиду Fc, що посилюють зв'язування з FcRn, є Met252Tyr, Ser254Thr, Thr256Glu (M252Y, S256T, T256E) (нумерація за Kabat, Dall'Acqua et al 2006, J. Biol Chem Vol 281(33) 23514-23524) або Met428Leu і Asn434Ser (M428L, N434S) (Zalevsky et al 2010 Nature Biotech, Vol. 28(2) 157-159) (індекс ЄС за Kabat et al 1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest) або Met428Val і Asn434Ser (M428V, N434S) при використанні системи нумерації за Kabat. У деяких варіантах здійснення даного винаходу мутований або модифікований поліпептид Fc включає одну або більше мутації, вибрані з групи, яка складається з Met252Tyr (M252Y), Ser254Thr (S256T), Thr256Glu (T256E), Met428Leu (M428L), Met428Val (M428V), Asn434Ser (N434S) і їх комбінацій. У деяких варіантах здійснення даного винаходу частина поліпептиду Fc мутована або по-іншому модифікована для запобігання опосередкованої Fc димеризації (Ying et al 2012 J. Biol Chem 287(23): 19399-19408). В цих варіантах здійснення даного винаходу злитий білок є мономерним в природі.

[000116] Злиті білки і їх варіанти, представлені в даній заявці, мають інгібуючу активність, наприклад, інгібуючою серинові протеази, такі як еластаза нейтрофілів людини, серинова протеаза з хімотрипсиновим фолдом, що секретується нейтрофілами при запальній відповіді. Злиті білки, представлені в даній заявці, повністю або частково зменшують або по-іншому модулюють експресію або активність серинових протеаз при зв'язуванні або при іншій взаємодії з сериновою протеазою, напр., з людською сериновою протеазою. Зниження або модуляція біологічної функції серинової протеази відбувається повністю або частково при взаємодії злитих білків і білка, поліпептиду і/або пептиду серинової протеази людини. Вважається, що злиті білки повністю інгібують експресію або активність серинової протеази, якщо рівень експресії або активності серинової протеази в присутності злитого білка знижується щонайменше на 95 %, напр., на 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % в порівнянні з рівнем експресії або активності серинової протеази при відсутності взаємодії, напр., зв'язування, зі злитим білком, описаним в даній заявці. Вважається, що злиті білки частково інгібують експресію або активність серинової протеази, якщо рівень експресії або активності серинової протеази в присутності злитого білка знижується менше ніж на 95 %, напр., 10 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 75 %, 80 %, 90 %.

85 % або 90 % в порівнянні з рівнем експресії або активності серинові протеази при відсутності взаємодії, напр., зв'язування, зі злитим білком, описаним в даній заявці.

[000117] Злиті білки, описані в даній заявці, застосовні по ряду терапевтичних, діагностичних і профілактичних показників. Наприклад, злиті білки застосовні в лікуванні ряду захворювань і порушень у суб'єкта. У деяких варіантах здійснення даного винаходу серпінкові злиті білки, включаючи описані в даній заявці злиті білки, застосовні для лікування, зменшення симптомів, полегшення і/або затримок розвитку захворювань або порушень у суб'єкта, який страждає на захворювання або порушення або має підвищений ризик розвитку захворювання або порушення, вибраного з недоліку альфа-1-антитрипсину (AAT, alpha-1-antitrypsin), емфіземи, хронічної обструктивної хвороби легень (ХОХЛ), синдрому гострої дихальної недостатності, алергічної астми, кістозного фіброзу, раку легень, ішемічного-реперфузійного пошкодження, в тому числі ішемічне-реперфузійне пошкодження після пересадки серця, інфаркту міокарда, ревматоїдного артриту, септичного артриту, псоріатичного артриту, анкілозуючого спондиліту, хвороби Крона, псоріазу, діабету I і/або II типу, бактерійних інфекцій, грибкових інфекцій, вірусних інфекцій, пневмонії, сепсису, реакції "трансплантат проти хазяїна", загоєння рани, системного червоного вовчка і розсіяного склерозу.

[000118] Фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу включають злитий білок даного винаходу, включаючи модифіковані злиті білки й інші варіанти, а також придатного носія. Ці фармацевтичні композиції можна включити в набори, такі як, наприклад, діагностичні набори.

Короткий опис креслень

[000119] Фігура 1А являє собою схематичне зображення деяких варіантів застосування злитих білків "серпін-Fc" відповідно до даного винаходу. Серпін може знаходитися в будь-якому положенні в складі злитого білка. Також представлені злиті білки "серпін-Fc", що включають декілька серпінкових поліпептидів. Фігура 1В являє собою фотографію результату електрофорезу в поліакриламідному гелі (ПААГ) з додецилсульфатом натрію, що показує отримані з сироватки AAT (доріжка 1), AAT-Fc1 (доріжка 2, Fc людського IgG1) і AAT-EL-Fc1 (доріжка 3, мутації Met351Glu, Met358Leu в AAT, Fc людського IgG1). Фігура 1С являє собою графік, що показує інгібування активності еластази нейтрофілів злитими білками AAT-Fc. Фігура 1D являє собою фотографію результату електрофорезу в ПААГ з додецилсульфатом натрію, що показує чотиривалентний AAT-Fc-AAT, що містить два поліпептиду AAT на один поліпептид Fc. Фігура 1Е являє собою графік, що показує інгібування активності еластази нейтрофілів злитим чотиривалентним білком AAT-Fc-AAT. Фігура 1F являє собою графік, що показує ефект елюювання зі смоли з протеїном А при низькому рН, при цьому здатність злитого білка "AAT-Fc", елююваного при низькому рН, інгібувати еластазу нейтрофілів сильно знижена. Фігура 1G являє собою графік, що показує, що подвійний мутант AAT-EL-Fc (мутації Met351Glu, Met358Leu) стійкий до інактивації H₂O₂ (кінц.) в порівнянні з AAT дикого типу і з одним мутантом AAT-EM-Fc (Met351Glu). Фігура 1H являє собою графік, що показує швидкість сироваткового кліренса отриманого з сироватки AAT (sdAAT, serum derived AAT) в порівнянні з AAT-Fc у щурів, що отримали дозу мг/кг білка (3 щури/досліджуваний білок). Час напіввиведення AAT-Fc значно більший ніж у sdAAT.

[000120] Фігура 2А являє собою схематичне зображення деяких варіантів застосування злитих білків "серпін-діючий на цитокін поліпептид" даного винаходу. Серпін можна з'єднати або з важким ланцюгом, або з легким ланцюгом, або як з важким, так і з легким ланцюгом антитіла. Також наведені злиті білки "серпін-рецептор цитокіну". Фігура 2В являє собою фотографію результату електрофорезу в ПААГ з додецилсульфатом натрію, що показує антитіло D2E7 (доріжка 1) і антитіло D2E7, з важким ланцюгом якого злитий AAT (доріжка 2). Фігура 2С являє собою графік, що показує інгібування активності еластази нейтрофілів антитілом D2E7, злитим з AAT. Виділений з сироватки AAT показаний як позитивний контроль, в той час як антитіло D2E7 в індивідуальному вигляді показане як негативний контроль інгібування еластази нейтрофілів.

[000121] Фігура 3А являє собою схематичне зображення деяких варіантів застосування злитих білків "серпін-Fc-WAP". Фігура 3В являє собою фотографію результату електрофорезу в ПААГ з додецилсульфатом натрію, що показує AAT-Fc-ELAFIN (доріжка 1) і AAT-Fc-SLPI (доріжка 2). Фігура 3С являє собою графік, що показує інгібування активності еластази нейтрофілів за допомогою злитого білка "AAT-Fc-елафін" і злитого білка "AAT-Fc-SLPI". Злитий білок AAT-Fc і виділений з сироватки AAT включені для порівняння.

[000122] Фігура 4А являє собою схематичне зображення деяких варіантів застосування злитих білків "AAT-HSA". Фігура 4В являє собою фотографію результату електрофорезу в ПААГ з додецилсульфатом натрію, що показує злитий білок "AAT-HSA". Фігура 4С являє собою графік, що показує інгібування активності еластази нейтрофілів за допомогою "AAT-HSA" в порівнянні з виділеним з сироватки AAT.

Докладний опис винаходу

[000123] Еластаза нейтрофілів людини є сериною протеазою з хімотрипсиновим доменом, що секретується під час запалення. Порушена активність еластази нейтрофілів приводить до прогресуючої деградації еластинових тканин і до повільного руйнування альвеолярних структур легень, що викликає емфізему і фіброз легень (Lungarella et al 2008 Int. J. Biochem Cell Biol 40:1287). Часто порушена активність еластази нейтрофілів зумовлена порушенням балансу протеази і її природного інгібітора альфа-1-антитрипсину (ААТ, alpha1-antitrypsin). Такий дисбаланс зумовлений посиленням інфільтрації нейтрофілів в легенях, що спостерігається в легенях курців і пацієнтів з кістозним фіброзом або з синдромом гострої дихальної недостатності. У свою чергу, через недостатність ААТ, як правило, викликаній точковою мутацією, через яку ААТ агрегує і накопичується в печінці, в легенях спостерігається неконтрольована активність еластази нейтрофілів. Індивіди з нестачею ААТ мають підвищений ризик розвитку емфіземи, ХОХЛ, захворювань печінки і ряду інших станів.

[000124] Недолік ААТ спостерігається приблизно у 100000 американців (за оцінками Фонду "Alpha-1 Foundation"), і багато які хворі вмирають у віці 30-50 років. У цей час існує лише декілька схвалених FDA (Food and Drug Administration, Управління з контролю за якістю харчових продуктів і лікарських засобів) лікарських засобів для лікування недоліку ААТ (Prolastin®, Aralast®, Zemaira®, Glassia®). Кожний лікарський засіб є природним ААТ, отриманим з об'єднаної плазми крові людини, що, очевидно, недостатньо для задоволення клінічних потреб. Також ці продукти мають короткий час напіввиведення з сироватки ($T_{1/2}$ становить приблизно 5 днів) і вимагають щотижневих інфузій високої дози (60 мг/кг ваги тіла). В цей час ринок цих лікарських засобів оцінюється в 400 мільйонів доларів США. Ринок ААТ-подібних лікарських засобів, ймовірно, значно більший, судячи по тому, що 95 % індивідів з нестачею ААТ залишаються не діагностованими і беручи до уваги той факт, що ці лікарські засоби можуть бути ефективними в терапії патологій, що характеризуються підвищеною активністю еластази нейтрофілів у індивідів без недоліку ААТ (напр., з кістозним фіброзом, з синдромом гострої дихальної недостатності, викликаній курінням емфіземою і/або ХОХЛ).

[000125] Передбачають, що ААТ має широкий спектр протизапальної активності (Tilg et al 1993 J Exp Med 178:1629-1636, Libert et al 1996 Immunol 157:5126-5129, Pott et al, Journal of Leukocyte Biology 85 2009, Janciauskiene et al 2007 J. Biol Chem 282(12): 8573-8582, Nita et al 2007 Int J Biochem Cell Biol 39:1165-1176). Нещодавно були отримані докази можливості застосування ААТ для лікування багатьох патологій людини, що не стосуються звичайно передбачуваних запальних станів дихальних шляхів. Було показано, що людський ААТ захищає мишей від вияву клінічних і гістопатологічних ознак експериментального аутоімунного енцефаломієліту, що дозволяє передбачити, що його можна застосовувати для лікування аутоімунних захворювань, таких як розсіяний склероз або системна червоний вовчак (Subramanian et al 2011 Metab Brain Dis 26:107-113). Було показано, що сироватковий ААТ виявляє активність в моделях реакції "трансплантат проти хазяїна" у гризунів (Tawara et al 2011 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109: 564-569, Marcondes et al 2011 Blood Nov 3;118(18):5031-9), що стало основою проведення клінічного дослідження на людині із застосуванням ААТ для лікування індивідів з рефрактерною до стероїдів гострою реакцією "трансплантат проти хазяїна" (NCT01523821). Додатково, ААТ був ефективний в тваринних моделях діабету I і II типу, в зменшенні запалення, захисті клітин панкреатичних островців від апоптоза і забезпечення стійкості алотрансплантату клітин панкреатичних островців (Zhang et al 2007 Diabetes 56:1316-1323, Lewis et al 2005 Proc Natl Acad Sci USA 102:12153-12158, Lewis et al 2008 Proc Natl Acad Sci USA 105:16236-16241, Kalis et al 2010 Islets 2:185-189). В цей час проводиться множина клінічних досліджень ранньої фази у людей з діабетом I типу із застосуванням отриманих з сироватки ААТ-продуктів (NCT01183468, NCT01319331, NCT01304537).

[000126] Існуючі в цей час отримані з сироватки ААТ-продукти піддаються ретельному очищенню і дослідженню для забезпечення видалення патогенних вірусів, однак не можна повністю виключити ризик зараження інфекційними агентами. Більше того кількість сироватки обмежена, що обмежує можливості отримання ААТ з сироватки. Спроби вирішити проблеми, пов'язані з продуктами, що отримуються з сироватки і з їх виробництвом, були зосереджені на експресії рекомбінантного ААТ. Однак за 20 років роботи покоління терапевтично доступного рекомбінантного ААТ так і не вийшло на ринок (Karnaukhova et al 2006 Amino Acids 30: 317). Як і продукти, що отримуються з плазми, рекомбінантні варіанти ААТ мають короткий час напіввиведення, низький вихід продукції і поганий розподіл в легенях.

[000127] Злиті білки даного винаходу мають поліпшеною функціональністю в порівнянні з немодифікованою молекулою ААТ. Зв'язування поліпептиду ААТ з другим поліпептидом, який взаємодіє з неонатальним Fc-рецептором (FcRn, neonatal Fc receptor), служить для підвищення

часу напіввиведення з сироватки, що забезпечує необхідну пацієнтам перевагу при дозуванні. Ці взаємодіючі з FcRn поліпептиди злитого білка включають поліпептиди Fc імуноглобулінів (Ig), що отримуються з людських IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 або IgM, і похідні людського альбуміну. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злитий білок включає мутації в частини AAT, які роблять молекулу стійкішою до інактивації окисненням. Наприклад, Met351Glu, Met358Leu (AAT-EL-Fc) демонструють стійкість до інактивації при окисненні H₂O₂ (Фігура 1G). У той час як AAT є природним протизапальним білком, деякі варіанти здійснення даного винаходу мають збільшену здатність зменшувати запалення при зв'язуванні поліпептиду AAT і діючого на цитокіни поліпептиду. Зв'язування двох протизапальних функцій AAT і другий поліпептид забезпечує більш виражену активність терапевтичного білка, ніж у кожного поліпептиду окремо. Додатково, зв'язування протиінфекційної активності AAT зменшить ризик розвитку інфекції більшості діючих на цитокіни біологічних препаратів. Деякі варіанти здійснення даного винаходу представляють активніші протизапальні і протиінфекційні білки за рахунок зв'язування поліпептиду AAT і поліпептиду, що містить домен WAP. Очікується, що злиті білки даного винаходу будуть мати більшу терапевтичну застосовність і будуть перевершувати існуючі в цей час отримувані з сироватки AAT-продукти.

[000128] Для збільшення часу напіввиведення рекомбінантного AAT застосовували технологію рекомбінантних ДНК для отримання гена AAT, злитого з доменом Fc людських IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM або HSA, таким, що в очікуваному білковому продукті за AAT буде слідувати домен Fc (AAT-Fc (IgG1), AAT-Fc (IgG2), AAT-Fc (IgG3), AAT-Fc (IgG4), AAT-Fc (IgM) або за AAT буде слідувати HSA. В той час як було відомо, що зв'язування доменів Fc HSA з деякими білками, білковими доменами або пептидами може збільшувати їх час напіввиведення (див., напр., Jazayeri et al. BioDrugs 22, 11-26, Huang et al. (2009) Curr Opin Biotechnol 20, 692-699, Kontermann et al. (2009) BioDrugs 23, 93-109, Schmidt et al. (2009) Curr Opin Drug Discov Devel 12, 284-295), не було відомо, що зв'язування домену Fc або HSA з AAT забезпечує належний фолдинг і підтримку інгібуючої еластази нейтрофілів активності або продовжує час напіввиведення рекомбінантного AAT. Показано, що злиті білки даного винаходу є сильними інгібіторами еластази нейтрофілів, мають збільшений час напіввиведення і в деяких варіантах здійснення даного винаходу стійкі до окиснення. В інших варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, мають певні властивості за рахунок включення інших функціональних поліпептидів, включаючи діючі на цитокіни поліпептиди і поліпептиди, які містять домен WAP.

[000129] У нейтрофілів, головного джерела еластази нейтрофілів, часто відбувається окиснювальний вибух одночасно з секрецією еластази нейтрофілів. Таким чином, важливою властивістю злитих білків даного винаходу є активність в окиснювальному середовищі. Окиснення AAT всередині петлі реакційного центра за Met351 і/або Met358 зменшує здатність AAT інгібувати еластазу нейтрофілів. Як показано на Фігурі 1G, окиснювальну інактивацію можна зменшити за допомогою мутацій Met351Glu і Met358Leu (M351E/M358L), показаних в SEQ ID NO:32. Також було показано, що окиснення ділянки Fc за Met252 і Met428 зменшує зв'язування FcRn і згодом скорочує час напіввиведення білка, який містить Fc, з сироватки. Мутація Met252 і Met428 зменшує окиснення ділянки Fc. Даний винахід розкриває і оптимізує злитий білок "AAT-Fc", який є стійким до окисної інактивації в частині AAT злитого білка, завдяки мутаціям M351 і M358, і до окиснювального порушення взаємодії з FcRn, завдяки мутаціям M252 і M428, і має збільшений час напіввиведення, завдяки набору мутацій M252I, T256D і M428L.

[000130] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc мутований або модифікований для посилення зв'язування FcRn. У цих варіантах здійснення даного винаходу мутований або модифікований поліпептид Fc включає наступні мутації: Met252Ile, Thr256Asp і Met428Leu (M252I, T256D, M428L) при використанні системи нумерації за Kabat.

[000131] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc є модифікованим поліпептидом Fc IgG1, і злитий білок включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 53.

[000132] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc є модифікованим поліпептидом Fc IgG1, і злитий білок включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73.

[000133] У деяких варіантах здійснення даного винаходу, в яких злитий білок даного винаходу включає поліпептид Fc, поліпептид Fc мутований або модифікований для зменшення зв'язування з рецепторами Fc-гама (FcγR, Fc-gamma receptor). У деяких варіантах здійснення даного винаходу зменшення зв'язування FcγR можна досягнути за допомогою модифікації

глікозилювання Fc за Asn297. Наприклад, при мутації Asn297Ala (N297A) або Asn297Gln (N297Q). У деяких варіантах здійснення даного винаходу зменшення зв'язування FcγR можна досягнути за допомогою модифікації нижньої шарнірної ділянки Fc. У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc отримують з людського IgG1. У деяких з цих

5 варіантів здійснення даного винаходу нижня шарнірна ділянка модифікована для імітації шарнірної ділянки IgG2 за допомогою мутації Leu234Val і Leu235Ala (L235V/L235A) і делеції Gly236 (ΔG236) при використанні системи нумерації за Kabat:

IgG1-шарнір дикий тип: DKTHTCPPCPAPELLGGPS (SEQ ID NO: 74)

IgG1-VAΔG шарнір: DKTHTCPPCPAPEVA-GPS (SEQ ID NO: 75)

10 У деяких з цих варіантів здійснення даного винаходу злитий білок включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 51.

[000134] У деяких варіантах здійснення даного винаходу поліпептид Fc отримують з людського IgG4. У деяких з цих варіантів здійснення даного винаходу нижня шарнірна ділянка модифікована за допомогою мутації Leu235Glu (L235E). Додатково, у варіантах здійснення

15 даного винаходу, в яких поліпептид Fc отримують з IgG4, шарнірна ділянка модифікована за допомогою стабілізуючої мутації Ser228Pro (S228P) при використанні системи нумерації за Kabat:

IgG4- шарнір дикий тип: ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPS (SEQ ID NO: 76)

IgG4- шарнір PE: ESKYGPPCPSCPAPEFEGGPS (SEQ ID NO: 77)

20 У деяких з цих варіантів здійснення даного винаходу злитий білок включає щонайменше амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70.

[000135] Злиті білки, описані в даній заявці, включають щонайменше серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпіну, і другий поліпептид. У деяких варіантах здійснення даного винаходу, наприклад, даний винахід представляє серпіновий

25 поліпептид, зв'язаний з похідними людського IgG1-Fc, IgG2-Fc, IgG3-Fc, IgG4-Fc, IgM-Fc або HSA. Очікується, що злиті з серпіном білки, описані в даній заявці, будуть застосовні в лікуванні по ряду показань, включаючи, але не обмежуючись, наприклад, недоліком альфа-1-антитрипсину (AAT, alpha-1-antitrypsin), емфіземою, хронічною обструктивною хворобою легень (ХОХЛ), синдромом гострої дихальної недостатності, алергічною астмою, кістозним фіброзом,

30 раком легень, ішемічним-реперфузійним пошкодженням, в тому числі ішемічний-реперфузійним пошкодженням після пересадки серця, інфарктом міокарда, ревматоїдним артритом, септичним артритом, псоріатичним артритом, анкілозуючим спондилітом, хворобою Крона, псоріазом, діабетом I і/або II типу, бактерійними інфекціями, грибковими інфекціями, вірусними інфекціями, пневмонією, сепсисом, реакцією "трансплантат проти хазяїна", загоєнням рани, системним червоним вовчаком і розсіяним склерозом.

35 [000136] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, включають щонайменше поліпептид альфа-1-антитрипсину (AAT, alpha-1-antitrypsin) або амінокислотну послідовність, що отримується з AAT, і другий поліпептид. Наприклад, даний винахід представляє альфа-1-антитрипсин (AAT), зв'язаний з похідними людського IgG1-Fc,

40 IgG2-Fc, IgG3-Fc, IgG4-Fc, IgM-Fc або HSA.

[000137] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, включають щонайменше серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпінового поліпептиду і діє на цитокіни поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з діючого на цитокіни поліпептиду. Наприклад, даний винахід

45 представляє серпіновий поліпептид або послідовність, що отримується з серпінового поліпептиду, злиті з людським цитокіновим рецептором або його похідним. Інший варіант здійснення даного винаходу представляє серпіновий поліпептид або послідовність, що отримується з серпінового поліпептиду, злиті з діючим на цитокіни антитілом, напр., з антитілом до цитокіну або з послідовністю, що отримується з діючого на цитокіни антитіла, напр., з антитілом до цитокіну або з послідовністю, що отримується з фрагмента діючого на цитокіни антитіла, напр., з фрагмента антитіла до цитокіну. Наприклад, даний винахід представляє серпіновий поліпептид або послідовність, що отримується з серпінового поліпептиду, злиті з діючим на цитокіни поліпептидом, де діючий на цитокіни поліпептид зв'язує будь-який з наступних людських цитокінів: TNFα (tumor necrosis factor, фактор некрозу пухлини, IgE, IL-12 (interleukin, інтерлейкін), IL-23, IL-6, IL-1α, IL-1β, IL-17, IL-13, IL-4, IL-10, IL-2, IL-18, IL-27 або IL-32.

50 [000138] Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу діючий на цитокіни поліпептид діє на TNFα і включає будь-який з наступних діючих на TNFα поліпептидів або послідовностей, що отримуються з наступних діючих на TNFα поліпептидів: Remicade®, Humira®,

60 Simponi®, Cimiza®, Enbrel® або ATN-103 і ATN-192.

[000139] Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу діючий на цитокіни поліпептид діє на IgE і включає будь-який з наступних діючих на IgE поліпептидів або послідовностей, що отримуються з наступних діючих на IgE поліпептидів: Xolair або FcεRI.

5 [000140] Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу діючий на цитокіни поліпептид діє на загальну для IL-12 і IL-23 субодиницю p40 і включає поліпептид Stelara® або послідовності, що отримуються з поліпептиду Stelara®.

[000141] Наприклад, діючий на цитокіни поліпептид Stelara® діє на IL-13 і включає поліпептид CDP7766 або послідовності, що отримуються з поліпептиду CDP7766.

10 [000142] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, включають щонайменше поліпептид альфа-1-антитрипсину (AAT, alpha-1-antitrypsin) або амінокислотну послідовність, що отримується з AAT, і діючий на цитокіни поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з діючого на цитокіни поліпептиду. Наприклад, даний винахід представляє альфа-1-антитрипсиновий інгібітор (AAT), злитий з діючим на цитокіни поліпептидом, в якому діючий на цитокіни поліпептид зв'язує будь-який з наступних людських цитокінів: TNFα, IgE, IL-6, IL-1α, IL-1β, IL-12, IL-17, IL-13, IL-23, IL-4, IL-10, IL-2, IL-18, IL-27 або IL-32.

15 [000143] У деяких варіантах здійснення даного винаходу діючий на цитокіни поліпептид зв'язує цитокіновий рецептор і запобігає зв'язуванню цитокіну. Наприклад, даний винахід включає серпін, зв'язаний з діючим на цитокіновий рецептор антитілом. Наприклад, даний винахід представляє α-1-антитрипсиновий інгібітор (AAT), злитий з діючим на цитокіни поліпептидом, в якому діючий на цитокіни поліпептид зв'язує будь-який з наступних людських цитокінів: TNFα, IgE, IL-6, IL-1α, IL-1β, IL-12, IL-17, IL-13, IL-23, субодиницю p40 IL-12 і IL-23, IL-4, IL-10, IL-2, IL-18, IL-27 або IL-32.

20 [000144] Наприклад, в деяких варіантах здійснення даного винаходу діючий на цитокіни поліпептид діє на рецептор IL-6 і включає поліпептид Actemra® (як описано в публікації патенту EP0628639) або поліпептид ALX-0061 (як описано в WO2010/115998), або послідовності, що отримуються з поліпептиду Actemra® або з поліпептиду ALX-0061.

[000145] Наприклад, діючий на цитокіни поліпептид Actemra® діє на рецептор IL-6 і включає поліпептид тоцилізумабу або послідовності, що отримуються з поліпептиду тоцилізумабу.

30 [000146] Було показано, що дія на запальні цитокіни й імуностимулюючі агенти білковими лікарськими засобами є клінічно ефективним при ряді запальних станів. Найбільш поширеними білками, що застосовуються як діючі на цитокіни агентів, є розчинні цитокінові рецептори і моноклональні антитіла і їх фрагменти. Істотним недоліком при дії на цитокіни є ризик розвитку інфекції у пацієнтів, про що свідчать дані про діючі на TNFα біологічних лікарських засобах Remicade®, Humira®, Simponi®, Cimiza® і Enbrel® і про діючий на IL-12/23 p40 антитілі Stelara®. Ймовірно, це поширена проблема при дії на запальні цитокіни, що приводить до імуносупресії у пацієнтів. AAT й інші серпінові білки цікаві тим, що мають як протиінфекційну, так і протизапальну активність. Таким чином, злиті білки "серпін-діючий на цитокіни поліпептид" даного винаходу можуть придушувати порушену активність цитокінів, зменшуючи ризик розвитку інфекції.

40 [000147] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, включають серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпіну, що містить домен WAP поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду, що містить домен WAP, і поліпептид Fc або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду Fc. Наприклад, даний винахід представляє серпіновий поліпептид, що містить домен WAP поліпептид і похідну людську IgG1-Fc, IgG2-Fc, IgG3-Fc, IgG4-Fc або IgM-Fc, функціонально зв'язаних один з одним в будь-якій функціональній комбінації. У деяких варіантах здійснення даного винаходу білок, який містить домен WAP, є людським SLPI або походить з людського SLPI. В інших варіантах здійснення даного винаходу білок, який містить домен WAP, є людським елафіном або походить з людського елафіну. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, включають щонайменше поліпептид альфа-1-антитрипсину (AAT, alpha-1-antitrypsin) або амінокислотну послідовність, що отримується з AAT, і поліпептид SLPI або амінокислотну послідовність, що отримується з SLPI. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, включають щонайменше поліпептид AAT або амінокислотну послідовність, що отримується з AAT, і поліпептид елафіну або амінокислотну послідовність, що отримується з елафіну.

55 [000148] SLPI і елафін являють собою білки, які містять домен WAP, що мають інгібуючу серинові протеази активність. Обидва ці білки мають протизапальну функцію. Крім того, ці білки мають широкий спектр протиінфекційних властивостей відносно ряду штамів бактерій, вірусів і грибків.

[000149] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, включають щонайменше серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпіну, і поліпептид людського сироваткового альбуміну або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду людського сироваткового альбуміну. Інші варіанти здійснення даного винаходу включають злиті білки "серпін-зв'язувальний альбумін поліпептид", в якого зв'язувальний альбумін поліпептид відповідає за зв'язування серпіну і людського сироваткового альбуміну. Таким чином, даний винахід включає як ковалентні, так і нековалентні зв'язки серпінового поліпептиду і поліпептиду HSA або послідовностей, що отримуються з серпінового поліпептиду або поліпептиду HSA. Наприклад, даний винахід представляє серпіновий поліпептид, зв'язаний з людським HSA або з похідними HSA, або зі зв'язувальним HSA пептидом або поліпептидами.

[000150] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, включають щонайменше поліпептид альфа-1-антитрипсину (AAT, alpha-1-antitrypsin) або амінокислотну послідовність, що отримується з AAT, і поліпептид HSA або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду HSA. Наприклад, даний винахід представляє альфа-1-антитрипсин (AAT), зв'язаний з HSA або з фрагментом, що отримується з HSA, або зі зв'язувальним альбумін поліпептидом.

[000151] У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, включають серпіновий поліпептид або амінокислотну послідовність, що отримується з серпіну, поліпептид HSA або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду HSA, і пептид, який містить домен WAP або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду, який містить домен WAP. У деяких варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, включають щонайменше поліпептид альфа-1-антитрипсину (AAT, alpha-1-antitrypsin) або амінокислотну послідовність, що отримується з AAT, поліпептид HSA або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду HSA, і поліпептид SLPI або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду SLPI. В інших варіантах здійснення даного винаходу злиті білки, описані в даній заявці, включають щонайменше поліпептид альфа-1-антитрипсину (AAT, alpha-1-antitrypsin) або амінокислотну послідовність, що отримується з AAT, поліпептид HSA або амінокислотну послідовність, що отримується з поліпептиду HSA, і поліпептид елафіну або амінокислотну послідовність, що отримується з елафіну.

[000152] Злиті білки даного винаходу можна легко отримати в експресійних системах на основі клітин ссавців. Наприклад, клітини яєчників китайського хом'яка (CHO, Chinese Hamster Ovary), клітини ембріональної нирки людини 293 (HEK, Human Embryonic Kidney), клітини COS, клітини PER.C6®, клітини NS0, SP2/0, YB2/0 можна з успіхом застосовувати для експресії серпінових злитих білків, описаних в даній заявці. Важливо відмітити, в експресійних системах на основі клітин ссавців отримують білки, які, як правило, є більш придатними для терапевтичного застосування. На відміну від експресійних систем на основі бактерій, комах або дріжджів в експресійних системах на основі клітин ссавців отримують білки, характер глікозилювання яких подібний з характером глікозилювання білків, що зустрічаються в природі. Належне глікозилювання білка може мати важливе значення для стабільності в сироватці, фармакокінетиці біорозподілення, фолдингу і функціональності білка. Таким чином, можливість отримувати терапевтичні білки в системах експресії ссавців має певні переваги в порівнянні з іншими системами. Також об'єм експресійних систем на основі клітин ссавців (напр., клітин CHO, NS0, PER.C6®) можна легко збільшити в умовах комерційного виробництва для отримання терапевтичних білків для задоволення клінічних потреб. Злиті білки, описані в даній заявці, мають вдосконалену функціональність в порівнянні з природною формою AAT і можуть бути отримані в експресійних системах на основі клітин ссавців для клінічного і комерційного постачання. Деякі варіанти здійснення даного винаходу включають систему очищення, яка дозволяє виділяти серпінові злиті білки, що зберігають здатність інгібувати еластазу нейтрофілів. Важливо зазначити, що процес очищення даного винаходу можна легко зробити частиною існуючих в цей час комерційних процесів отримання на основі клітин ссавців.

[000153] Якщо інше не визначене, наукові і технічні терміни, що застосовуються в зв'язку з даним винаходом, будуть мати загальноприйняті для фахівців в даній галузі техніки значення. Також, якщо інше не визначене контекстом, терміни в однині включають і множину, а терміни у множині включають також однину. Як правило, номенклатура, що застосовується в зв'язку з даним винаходом і техніка ведення клітинної і тканинної культури, молекулярної біології, хімії білків, оліго- або полінуклеотидів і гібридизації, описані в даній заявці, добре відомі і широко застосовуються в даній галузі техніки. Стандартна техніка застосовує для синтезу рекомбінантної ДНК і олігонуклеотидів, для ведення культури тканини і для трансформації (напр., електропорація, ліпофекція). Ферментативні реакції і техніки очищення проводять

відповідно до інструкцій виробників або так, як це прийнято в даній галузі техніки або як описано в даній заявці. Наведена далі техніка і процедури, як правило, проводять згідно зі стандартними способами, добре відомими в даній галузі техніки і описаними з різних загальних і спеціальних джерел, на які дані посилання, які цитуються і обговорюються протягом даного опису винаходу. Див., напр., Sambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)). Застосовні в контексті номенклатура, лабораторні процедури і техніка аналітичної хімії, синтетичної органічної хімії, медичної і фармацевтичної хімії, описані в даній заявці, добре відомі і широко застосовуються в даній галузі техніки. Стандартна техніка застосовує для проведення хімічного синтезу, хімічного аналізу, фармацевтичних засобів, лікарської форми, доставки лікарських засобів і лікування пацієнтів. Термін "пацієнт" включає людину і об'єктів ветеринарії.

[000154] Потрібно враховувати, що терапевтичні засоби відповідно до даного винаходу будуть вводити з придатними носіями, буферами ексципієнтами і іншими агентами, які включають в лікарську форму для оптимізації транспорту, доставки, переносимості і подібного. Цілий ряд придатних форм можна знайти в довіднику, відомому всім хімікам-фармацевтам: Remington's *Pharmaceutical Sciences* (15th ed, Mack Publishing Company, Easton, PA (1975)), особливо у Розділі 87, написаному Blaug, Seymour, там же. Ці форми включають, наприклад, порошки, пасти, мазі, желе, воски, олії, ліпіди, які містять ліпіди (катионні або аніонні) везикули (такі як Lipofectin™), кон'югати ДНК, безводні адсорбуючі пасти, емульсії "масло у воді" і "вода в маслі", емульсії карбовакс (поліетиленгліколі різної молекулярної ваги), напівтверді гелі і напівтверді суміші, що містить карбовакс. Будь-яка з вказаних сумішей може підійти для лікування і терапії відповідно до даного винаходу з урахуванням того, що активний інгредієнт в формі не інактивується лікарською формою, і що лікарська форма фізіологічно сумісна зі способом введення і переносима. Див. також Baldrick P. (*Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance*. Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-8 (2000), Wang W. "Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals." Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60 (2000), Charman WN (Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts. J Pharm Sci. 89(8):967-78 (2000), Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998) і посилання, наведені в них для додаткової інформації, що стосується складів, ексципієнтів і носіїв, добре відомих хімікам-фармацевтам.

[000155] Терапевтичні форми даного винаходу, що включають злитий білок даного винаходу, застосовують для лікування або зменшення симптому, асоційованого із захворюванням або порушенням, зв'язаним з порушенням активності серинової протеази у суб'єкта. Даний винахід також представляє способи лікування або зменшення симптому, асоційованого із захворюванням або порушенням, зв'язаним з порушенням активності серинової протеази у суб'єкта. Схему лікування проводять, ідентифікуючи суб'єкта, напр., людини, яка страждає на (або, що має високий ризик розвитку) захворювання або порушення, зв'язаним з порушенням активності серинової протеази, застосовуючи стандартні способи, включаючи будь-яку з ряду клінічних і/або лабораторних процедур. Термін "пацієнт" включає людину і об'єкти ветеринарії. Термін "суб'єкт" включає людину й інших ссавців.

[000156] Ефективність лікування визначають, застосовуючи будь-який відомий спосіб діагностики або лікування конкретного захворювання або порушення, асоційованого з порушенням активності серинової протеази. Зменшення одного або більше симптомів захворювання або порушення, асоційованого з порушенням активності серинової протеази, вказує на те, що злитий білок має клінічну ефективність.

[000157] Способи скринінгу злитих білків, які мають бажану специфічність, включають, але не обмежуються твердофазним імуноферментним аналізом (ELISA, enzyme linked immunosorbent assay), ферментативними дослідженнями, проточною цитометрією й іншою імунологічною технікою, відомою в даній галузі техніки.

[000158] Злиті білки, описані в даній заявці, можна застосовувати в способах, відомих в даній галузі техніки, що стосуються локалізації і/або кількісного аналізу мішені, такої як серинова протеаза, напр., для використання при вимірюванні рівнів цих мішеней у відповідних фізіологічних зразках, для застосування в способах діагностики, для застосування при візуалізації білка і подібному. Терміни "фізіологічний зразок" і "біологічний зразок", які застосовуються як взаємозамінні в даній заявці, включають тканини, клітини і біологічні рідини, взяті у суб'єкта, а також тканини, клітини і рідини, які знаходяться в організмі суб'єкта. Таким чином, терміни "фізіологічний зразок" і "біологічний зразок" охоплюють кров і фракцію або компонент крові, включаючи сироватку крові, плазму крові або лімфу.

[000159] У конкретному варіанті здійснення даного винаходу злиті білки, специфічні до конкретної мішені або їх похідні, фрагменти, аналоги або гомологи, які містять домен, який

зв'язує мішень, застосовують як фармакологічно активні сполуки (які називаються тут і далі терапевтичними засобами).

[000160] Злитий білок даного винаходу можна застосовувати для виділення конкретної мішені, використовуючи стандартні техніки, такі як імуноафінні техніки, хроматографія або імунопреципітація. Детектування також можна провести за допомогою зв'язування (тобто фізичного приєднання) злитого білка з детектованою речовиною. Приклади детектованих речовин включають різні ферменти, простетичні групи, флуоресцентні матеріали, люмінесцентні матеріали, біоломінесцентні матеріали і радіоактивні матеріали. Приклади придатних ферментів включають пероксидазу хрону, лужну фосфатазу, β -галактозидазу або ацетилхолінестеразу; приклади придатних комплексів простетичних груп включають стрептавідін/біотин і авідин/біотин; приклади придатних флуоресцентних матеріалів включають оксікумарин, флуоресцеїн, флуоресцеїну ізотіоціанат, родамін, дихлортриазиніламін флуоресцеїн, дансилхлорид або фікоеритрин; приклади придатних люмінесцентних матеріалів включають люмінол; приклади біоломінесцентних матеріалів включають люциферазу, люциферин і екворин, і приклади придатних радіоактивних матеріалів включають ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S або ^3H .

[000161] Терапевтично ефективна кількість злитого білка даного винаходу, як правило, стосується кількості, необхідної для досягнення терапевтичної мети. Як указано вище, це може бути зв'язуванням злитого білка з мішенню, яке в певних випадках порушує функціонування мішені. Кількість, яку необхідно ввести, буде також залежати від афінності зв'язування злитого білка з конкретною мішенню, а також буде залежати від швидкості, з якою введений злитий білок виводиться з організму суб'єкта, якому він був введений. Стандартні інтервали величини терапевтично ефективної дози злитого білка даного винаходу або його фрагмента можуть становити, наприклад, приблизно від 0,1 мг/кг ваги тіла до приблизно 250 мг/кг ваги тіла, але не обмежуючись цим. Стандартна частота введення доз може варіювати, наприклад, від двох разів на добу до одного разу на місяць.

[000162] При застосуванні фрагментів злитих білків переважно використовувати інгібуючий фрагмент найменшого розміру, який специфічно зв'язується з мішенню. Наприклад, можна створити пептидні молекули, що зберігають здатність зв'язувати мішень. Такі пептиди можна синтезувати хімічно і/або отримати за допомогою технології рекомбінантних ДНК. (Див., напр., Marasco et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993)). Лікарська форма також може містити декілька активних сполук відповідно до конкретного показання до терапевтичного застосування, переважно, з комплементарною активністю, які не чинять небажаної дії одна на одну. Альтернативно або додатково, композиція може містити агент, що посилює функцію, такий як, наприклад, цитотоксичний агент, цитокін, хіміотерапевтичний агент, агент, який інгібує ріст, протизапальний агент або протиінфекційний агент. Такі молекули присутні в комбінації в кількості, ефективній для заданої мети.

[000163] Також активні інгредієнти можуть бути укладені в мікрокапсули, отримані, наприклад, за допомогою техніки коацервації або полімеризації на межі розділення фаз, наприклад, в гідроксиметилцелюлозні або желатинові мікрокапсули і поліметилметакрилатні мікрокапсули, відповідно, в колоїдні системи доставки лікарських засобів (наприклад, ліпосоми, альбумінові мікросфери, мікроемульсії, наночастинки і нанокапсули) або в макроемульсії.

[000164] Лікарські форми для застосування для введення *in vivo* повинні бути стерильними. Це легко досягається за допомогою фільтрації через стерильні фільтрувальні мембрани.

[000165] Можна отримати засоби для вивільнення із затримкою. Придатні приклади засобів для вивільнення із затримкою включають напівпроникні матриці з твердих гідрофобних полімерів, що містять злитий білок, при цьому вказані матриці знаходяться в певній формі, напр., в формі плівок або мікрокапсул. Приклади матриць для вивільнення із затримкою включають поліефіри, гідрогелі (наприклад, полі(2-гідроксіетилметакрилат) або полівініловий спирт), полілактиди (патент США № 3773919), співполімери L-глутамінової кислоти і γ -етил-L-глутамату, етиленвінілацетат, який нерозкладається, співполімери молочної і гліколевої кислоти, які розкладаються, такі як LUPRON DEPOT™ (мікросфери для ін'єкції, що складаються зі співполімера молочної і гліколевої кислоти і лейпроліду ацетату), і полі-D-(-)-3-гідроксимасляну кислоту. В той час як полімери, такі як етиленвінілацетат і співполімери молочної і гліколевої кислоти, забезпечують вивільнення молекул протягом більше ніж 100 днів, визначені гідрогелі вивільняють білки протягом коротших періодів часу.

Фармацевтичні композиції

[000166] Злиті білки даного винаходу (які також називаються в даній заявці активними сполуками) і їх похідні, фрагменти, аналоги і гомологи можна включати в фармацевтичні композиції, придатні для введення. Такі композиції, як правило, містять злитий білок і

фармацевтично прийнятний носій. Як застосовують в даній заявці, термін "фармацевтично прийнятний носій" включає будь-який і всі розчинники, дисперсійні середовища, покриття, антибактеріальні і протигрибкові агенти, ізотонічні і затримуючі адсорбцію агенти і подібне, сумісне з фармацевтичним введенням. Придатні носії описані в останньому виданні Remington's Pharmaceutical Sciences, стандартному еталонному літературному джерелі в даній галузі техніки, включеному в дану заявку за допомогою посилання. Переважні приклади таких носіїв або розчинників включають, але не обмежуються водою, сольовим розчином, розчинами Рінгера, розчином декстрази і 5 % людським сироватковим альбуміном. Також можна застосовувати ліпосоми і безводні інертні носії, такі як жирні олії. Застосування таких середовищ і агентів для фармацевтично активних речовин добре відоме в даній галузі техніки. Передбачене застосування таких композицій, крім випадків, коли будь-яке стандартне середовище або агент несумісний з активною сполукою. Додаткові активні сполуки також можна включати до складу композицій.

[000167] Фармацевтичну композицію даного винаходу складають в такій формі, яка сумісна з бажаним способом введення. Приклади способів введення включають парентеральне, напр., внутрішньовенне, інтрадермальне, підшкірне, пероральне (напр., інгаляційне), трансдермальне (тобто місцеве), трансмукозальне і ректальне введення. Розчини або суспензії, які застосовуються для парентерального, інтрадермального або підшкірного введення, можуть включати наступні компоненти: стерильний розчинник, такий як вода для ін'єкцій, сольовий розчин, жирні олії, поліетиленгліколь, гліцерин, пропіленгліколь або інші синтетичні розчинники; антибактеріальні агенти, такі як бензиловий спирт або метилпарабени; антиоксиданти, такі як аскорбінова кислота або бісульфіт натрію; хелатуючі агенти, такі як етилендіамінтетраоцтова кислота (ЕДТА); буфери, такі як ацетати, цитрати або фосфати, і агенти для регуляції тонічності, такі як хлорид натрію або декстроза. рН можна підводити кислотами або основами, такими як соляна кислота або гідроксид натрію. Парентеральні засоби можна брати в ампули, одноразові шприци або багатодозові контейнери зі скла або пластику.

[000168] Фармацевтичні композиції, придатні для ін'єкцій, включають стерильні водні розчини (для водорозчинних композицій) або дисперсії і стерильні порошки для екстемпорального приготування стерильних розчинів або дисперсії для ін'єкції. Для внутрішньовенного введення придатні носії включають фізіологічний розчин, бактеріостатичну воду, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) або фосфатно-сольовий буфер. У всіх випадках композиція повинна бути стерильною і рідкою, що забезпечує можливість введення через шприц. Вона повинна бути стабільною в умовах отримання і зберігання і повинна містити консерванти, які перешкоджають контамінуючій дії мікроорганізмів, таких як бактерії і грибки. Носій може бути розчинником або диспергувальним середовищем, що містить, наприклад, воду, етанол, багатоатомний спирт (наприклад, гліцерин, пропіленгліколь і рідкий поліетиленгліколь і подібні) і їх придатні суміші. Належну текучість можна підтримувати, наприклад, застосовуючи покриття, таке як лецитин, підтримуючи бажаний розмір частинок у випадку дисперсії і за допомогою застосування сурфактантів. Запобігти дії мікроорганізмів можна за допомогою різних антибактерійних і протигрибкових агентів, наприклад, парабенів, хлорбутанолу, фенолу, аскорбінової кислоти, тимеросалу і подібного. У багатьох випадках в композицію переважно включати ізотонічні агенти, наприклад, цукор, багатоатомні спирти, такі як маніт, сорбіт, хлорид натрію. Пролонговану адсорбцію композицій для ін'єкції можна забезпечити за рахунок включення в композицію агента, який затримує адсорбцію, наприклад, моностеарату алюмінію і желатину.

[000169] Стерильні розчини для ін'єкції можна отримати за допомогою включення активної сполуки в необхідну кількість відповідного розчинника з одним інгредієнтом, перерахованим вище, або з комбінацією інгредієнтів, перерахованих вище, як це потрібно, і подальшої стерилізації фільтруванням. Як правило, дисперсії отримують за допомогою включення активної сполуки в стерильний інертний носій, що містить основне диспергувальне середовище й інші необхідні інгредієнти з числа пересичених вище. У випадку стерильних порошків для приготування стерильних розчинів для ін'єкції способами отримання є вакуумне висушування і ліофілізація з утворенням порошку активного інгредієнта з будь-якими додатковими бажаними інгредієнтами з їх розчину, попередньо стерилізованого фільтруванням.

[000170] Пероральні композиції, як правило, включають інертний розчинник або їстівний носій. Вони можуть бути поміщені в желатинові капсули або з них можуть бути сформовані таблетки. Для перорального терапевтичного введення до активної сполуки можна додавати ексципієнти і застосовувати в формі таблеток, пастилок або капсул. Пероральні композиції також можна отримати за допомогою рідкого носія для застосування як споліскувача для ротової порожнини, в якій сполуку в рідкому носії вводять перорально, проводять полоскання,

спльовують або проковтують. Фармацевтично сумісні зв'язувальні агенти і/або ад'ювантні матеріали можна включати як частину композиції. Таблетки, пілюлі, капсули, пастилки і подібне можуть містити будь-який з наступних інгредієнтів або сполук схожої природи: зв'язувальний агент, такий як мікрокристалічна целюлоза, трагантова камедь або желатин; ексципієнт, такий як крохмаль або лактоза, розпушувач, такий як альгінова кислота, Primogel або кукурудзяний крохмаль; лубрикант, такий як стеарат магнію або Sterotes; регулятор сипкості, такий як колоїдний діоксид кремнію; підсолоджувач, такий як сахароза або сахарин; або ароматизатор, такий як перцева м'ята, метилсаліцилат або апельсиновий ароматизатор.

[000171] Для інгаляційного введення сполуки доставляють в формі аерозолу, що розпилюється з контейнера під тиском або з диспенсера, що містить придатний пропелент, напр., газ, такий як вуглекислий газ, або з небулайзера.

[000172] Системне введення також може бути трансмукозальним або трансдермальним. Для трансмукозального або трансдермального введення в формі застосовують змочувальний агент. Такі змочувальні агенти, як правило, відомі в даній галузі техніки і включають, наприклад, для трансмукозального введення детергенти, солі жовчних кислот і похідні фусидової кислоти. Трансмукозальне введення можна провести, застосовуючи назальні спреї або супозиторії. Для трансдермального введення активні сполуки складають в формі мазей, бальзамів, гелів або кремів, як добре відомо в даній галузі техніки.

[000173] Сполуки також можна скласти в формі супозиторіїв (напр., зі стандартними супозиторними основами, такими як какао-масло й інші гліцериди) або утримувальних клізм для ректальної доставки.

[000174] В одному варіанті здійснення даного винаходу активні сполуки отримують з носіями, які захищають сполуки від швидкого виведення з організму, такі як форми з контрольованим вивільненням, включаючи імпланти і мікрокапсульовані системи доставки. Можна застосовувати біодеградовані, біосумісні полімери, такі як вінілацетат, поліангідриди, полігліколеву кислоту, колаген, складні поліортоефіри і полімолочну кислоту. Способи складання таких форм знайомі фахівцям в даній галузі техніки. Матеріали також можна придбати в Alza Corporation and Nova Pharmaceuticals, Inc. Також як фармацевтично прийнятні носії можна застосовувати ліпосомні суспензії. Їх можна отримати згідно зі способами, відомими фахівцям в даній галузі техніки, наприклад, як описано в патенті США № 4522811.

[000175] Особливо зручно скласти пероральні або парентеральні композиції в дозованій формі для полегшення введення і забезпечення одноманітності дозування. Як застосовують в даній заявці, дозована лікарська форма означає фізично розділені одиниці, відповідні однократним дозам для суб'єкта, що проходить лікування; кожна одиниця містить попередньо визначену кількість активної сполуки, розраховану таким чином, щоб забезпечити бажаний терапевтичний ефект, асоційований з бажаним фармацевтичним носієм. Технічні характеристики дозованої лікарської форми даного винаходу визначаються і залежать від унікальних характеристик активної сполуки і конкретного терапевтичного ефекту, який повинен бути досягнутий, і від обмежень, відомих в галузі складання суміші такої активної сполуки для лікування індивідів.

[000176] Фармацевтичні композиції можуть бути включені в контейнер, упаковку або диспенсер разом з інструкцією по введенню.

[000177] Даний винахід буде далі описаний в наступних прикладах, які не обмежують об'єм винаходу, описаний в формулі винаходу.

ПРИКЛАДИ

Приклад 1: злиті білки "AAT-Fc" і їх варіанти

[000178] Наведені як приклад, але не обмеження злиті білки "AAT-Fc" відповідно до даного винаходу включають наступні послідовності. У той час як ці приклади включають шарнірну послідовність і/або лінкерну послідовність, злиті білки даного винаходу можна отримувати, застосовуючи будь-яку шарнірну послідовність і/або лінкерну послідовність, придатну по довжині і/або гнучкості. Альтернативно, злиті білки можна отримувати без застосування шарнірної і/або лінкерної послідовності. Наприклад, можна напряму з'єднувати поліпептидні компоненти.

[000179] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-Fc" є AAT-hFc1 (Fc людського IgG1), описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), а поліпептид IgG-Fc, що є частиною злитого білка, виділений курсивом (SEQ ID NO: 3).

AAT-hFc1 (Fc людського IgG1)

EDPQGDAAQKTDTSHHQDHPFNKITPNLAEFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
GTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNPDSQLQLTTGNGLFLSEGLKLVDFKLEDVK

KL YHSEAFTVNFGDTEEAQQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDRTVFALVNYIFFKGKWERPFVEVKDT
 EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLG NATAIFFLPDEGKLQHLENELTHDI
 ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVF SNGADLSGVTEEA PLKLSKAVHKA VLTID
 EKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKEPKSCDKTHTCPPCP
 5 APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
 LHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:16)

[000180] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-Fc" є AAT-hFc2 (Fc людського IgG2),
 10 описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка,
 підкреслений (SEQ ID NO: 2), а поліпептид IgG-Fc, що є частиною злитого білка, виділений
 курсивом (SEQ ID NO: 4).

AAT-hFc2 (Fc людського IgG2)

EDPQGDAQAQKTDTSHHDDQDHTFNKITPNLAEFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
 15 GTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTL NQPDSQLQLTTGNGLFLSEGLKLVDKFLEDVK
 KLYHSEAFTVNFGDTEEAQQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDRTVFALVNYIFFKGKWERPFVEVKDT
 EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLG NATAIFFLPDEGKLQHLENELTHDI
 ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVF SNGADLSGVTEEA PLKLSKAVHKA VLTID
 EKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKERKCCVECPPCPAPP
 20 VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR
 VVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL
 VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
 HYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 17)

[000181] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-Fc" є AAT-MM-EL-hFc1 (Fc людського
 25 IgG1, Met351Glu/Met358Leu), описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є
 частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 34), поліпептид IgG-Fc, що є частиною
 злитого білка, виділений курсивом (SEQ ID NO: 3), мутація Met351Glu обведена рамкою, а
 мутація Met358Leu виділена сірим.

AAT-MM-EL-hFc1 (Fc людського IgG1, Met351Glu/Met358Leu)

EDPQGDAQAQKTDTSHHDDQDHTFNKITPNLAEFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
 30 GTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTL NQPDSQLQLTTGNGLFLSEGLKLVDKFLEDVK
 KLYHSEAFTVNFGDTEEAQQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDRTVFALVNYIFFKGKWERPFVEVKDT
 EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLG NATAIFFLPDEGKLQHLENELTHDI
 ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVF SNGADLSGVTEEA PLKLSKAVHKA VLTID
 EKGTEAAGAEFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKEPKSCDKTHTCPPCPA
 35 PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
 TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT
 CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
 HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 18)

[000182] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-Fc" є AAT-MM-EL-hFc2 (Fc людського
 40 IgG2, Met351Glu/Met358Leu), описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є
 частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 34), поліпептид IgG-Fc, що є частиною
 злитого білка, виділений курсивом (SEQ ID NO: 4), мутація Met351Glu обведена рамкою, а
 мутація Met358Leu виділена сірим.

AAT-MM-EL-hFc2 (Fc людського IgG2, Met351Glu/Met358Leu)

EDPQGDAQAQKTDTSHHDDQDHTFNKITPNLAEFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
 45 GTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTL NQPDSQLQLTTGNGLFLSEGLKLVDKFLEDVK
 KLYHSEAFTVNFGDTEEAQQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDRTVFALVNYIFFKGKWERPFVEVKDT
 EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLG NATAIFFLPDEGKLQHLENELTHDI
 ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVF SNGADLSGVTEEA PLKLSKAVHKA VLTID
 EKGTEAAGAEFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKERKCCVECPPCPAPP
 50 VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR
 VVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL
 VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
 55 HYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 19)

[000183] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-Fc" є AAT-MM-LL-hFc1 (Fc людського
 IgG1, Met351Leu/Met358Leu), описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є
 частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 35), поліпептид IgG-Fc, що є частиною
 злитого білка, виділений курсивом (SEQ ID NO: 3), мутація Met351Leu виділена чорним, а
 60 мутація Met358Leu виділена сірим.

AAT-MM-LL-hFc1 (Fc людського IgG1, Met351Leu/Met358Leu)

EDPQGDAQAQKTDTSHHDDQHPTFNKITPNLAFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
 GTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNGFLFLSEGLKLVDKFLEDVK
 KLYHSEAFTVNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGGKIVDLVKELDRDRTVFALVNYIFFKGKWERPFEVKDT
 5 EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAIAIFFLPDEGKLQHLLENELTHDI
 ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVFNSGADLSGVTEEAAPLKLSKAVHKAVLTID
 EKGTEAAGALFLEAIPLSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKEPKSCDKTHTCPPCPA
 PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
 TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT
 10 CLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
 HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:36)

[000184] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-Fc" є AAT-MM:LL-hFc2 (Fc людського IgG2, Met351Leu/Met358Leu), описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 35), поліпептид IgG-Fc, що є частиною злитого білка, виділений курсивом (SEQ ID NO: 4), мутація Met351Leu виділена чорним, а мутація Met358Leu виділена сірим.

AAT-MM:LL-hFc2 (Fc людського IgG2, Met351Leu/Met358Leu)

EDPQGDAQAQKTDTSHHDDQHPTFNKITPNLAFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
 GTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNGFLFLSEGLKLVDKFLEDVK
 20 KLYHSEAFTVNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGGKIVDLVKELDRDRTVFALVNYIFFKGKWERPFEVKDT
 EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAIAIFFLPDEGKLQHLLENELTHDI
 ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVFNSGADLSGVTEEAAPLKLSKAVHKAVLTID
 EKGTEAAGALFLEAIPLSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKERKCCVECPPCPAPPV
 AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
 25 VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
 KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
 HNTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:20)

[000185] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-Fc" є AAT-hFc1-AAT (людський IgG1), описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), поліпептид IgG-Fc, що є частиною злитого білка, виділений курсивом (SEQ ID NO: 3).

AAT-hFc1-AAT (людський IgG1)

EDPQGDAQAQKTDTSHHDDQHPTFNKITPNLAFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
 GTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNGFLFLSEGLKLVDKFLEDVK
 35 KLYHSEAFTVNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGGKIVDLVKELDRDRTVFALVNYIFFKGKWERPFEVKDT
 EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAIAIFFLPDEGKLQHLLENELTHDI
 ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVFNSGADLSGVTEEAAPLKLSKAVHKAVLTID
 EKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKEPKSCDKTHTCPPCP
 APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 40 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL
 TCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
 LHNHNTQKSLSLSPGKASTGSEDPAQDAQAQKTDTSHHDDQHPTFNKITPNLAFAFSLYRQLAHQSN
 STNIFFSPVSIATAFAMLSLGTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGN
 GLFLSEGLKLVDKFLEDVKKLYHSEAFTVNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGGKIVDLVKELDRDRTVFALV
 45 NYIFFKGKWERPFEVKDTEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAIAIF
 FLPDEGKLQHLLENELTHDIITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVFNSGADLSGV
 TEAAPLKLSKAVHKAVLTIDEKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNP
 TQK (SEQ ID NO:21)

AAT-EL-Fc-IgG1-DV, ΔG, IDL (AAT: Met351Glu/Met358Leu; Fc IgG1: Leu234Val/Leu235Ala, делеція Gly236, Met252Ile, Thr256Asp, Met428Leu)

EDPQGDAQAQKTDTSHHDDQHPTFNKITPNLAFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
 GTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNGFLFLSEGLKLVDKFLEDVK
 KLYHSEAFTVNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGGKIVDLVKELDRDRTVFALVNYIFFKGKWERPFEVKDT
 55 EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAIAIFFLPDEGKLQHLLENELTHDI
 ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVFNSGADLSGVTEEAAPLKLSKAVHKAVLTID
 EKGTEAAGAEFLEAIPLSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKGGGGDKTHTCPPCPA
 PEVAGPSVFLFPPKPKDTLIISRDPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
 YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC
 LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALH
 60 NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 78)

AAT-EL-Fc-IgG4-PE, IDL (AAT: Met351Glu/Met358Leu; Fc IgG4: Ser228Pro Leu235Glu, Met252Ile, Thr256Asp, Met428Leu)

EDPQGDAQKTDTSHHDDHPTFNKITPNLAEFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
 5 GTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNPDSQLQLTTGNGLFLSEGLKLVDFKLEDVK
 KLYHSEAFVTNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDVTVALVNYIFFKGKWERPFVEVKDT
 EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNATAIFFLPDEGKLQHLLENELTHDI
 ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGLGITKVFNSGADLSGVTEEAFLKLSKAVHKAVALTID
 EKGTEAAGAEFLEAIPLSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKESKYGPPCPPCPAPEF
 10 EGGPSVFLFPPKPKDTLIISRDPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYR
 VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL
 VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHN
 HYTEQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 79)

[000186] Ці наведені як приклади злиті білки "AAT-Fc" одержували, застосовуючи наступні техніки.

15 [000187] Ген, який кодує людський AAT, ампліфікували за допомогою ПЛР із кДНК печінки людини (Zyagen). Специфічні точкові мутації в гені, що кодує AAT або ділянка Fc, одержували за допомогою ПЛР з праймерами, які перекриваються. Ген, який кодує AAT, клонували в рамці з геном, що кодує шарнірну ділянку, за яким впливає домен CH2 і домен CH3 людського IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 або IgM, у вектор для експресії у ссавців, що містить послідовність секреторного сигналу ссавців, розташований вище сайту вставлення гена AAT. Цими експресійними векторами трансфікували клітини ссавців (а саме клітини HEK293 або CHO) і вирощували протягом декількох днів при 8 % CO₂ при 37 °C. Рекombінантні злиті білки "AAT-Fc" виділяли із супернатанта експерсувальних клітин за допомогою хроматографії на протеїні А. Важливо відзначити, що елювання злитого білка "AAT-Fc" зі смоли з протеїном А проводили буфером з нейтральним р (Gentle Ag/Ab Elution Buffer, Thermo Scientific). Злитий білок "AAT-Fc" не можна елювати зі смоли з протеїном А, застосовуючи стандартну елюцію при низькому рН, оскільки здатність AAT інгібувати еластазу нейтрофілів порушується при обробці низьким рН, імовірно, через опосередкований низьким рН олігомеризації AAT. Фігура 1F показує ефекти, що чинить елювання при низькому р на здатність AAT інгібувати еластазу нейтрофілів. Злитий білок "AAT-Fc" можна очистити або за допомогою протеїну А і буфера для елювання з низьким рН, або за допомогою альфа-1-антитрипсинової афінної матриці CaptureSelect® (BAC BV).

20 [000188] Очищені злиті білки "AAT-Fc" досліджували на предмет активності, визначаючи їх здатність інгібувати еластазу нейтрофілів. Фігури 1B і 1D показують результати електрофорезу очищеного з сироватки AAT (sdAAT) і злитих білків "AAT-Fc" в ПААГ з додецилсульфатом натрію в відновлювальних умовах (Фіг. 1B- доріжка 1: sdAAT, доріжка 2: AAT-Fc (SEQ ID NO: 16), доріжка 3: AAT-EL-Fc (SEQ ID NO: 18), Фіг. 1D AAT-Fc-AAT (SEQ ID NO: 20). Білки візуалізували за допомогою фарбування Кумасі синім.

25 [000189] Для дослідження активності еластази нейтрофілів людини застосовували дослідження флуоресценції в мікропланшетах. Інгібуючу активність вимірювали по супутньому зменшенню залишкової активності еластази нейтрофілів, проводячи наступне дослідження. Буфер для дослідження складається з 100 мМ Tris рН 7,4, 500 мМ NaCl і 0,0005 % Triton X-100. Еластазу нейтрофілів людини застосовують в кінцевій концентрації 5 нМ (також можна застосовувати концентрацію 1-20 нМ). Флуоресцентний пептидний субстрат AAVP-AMC застосовують в кінцевій концентрації 100 мкМ в даному дослідженні. Планшетний спектрофотометр Gemini EM plate reader виробництва Molecular Devices застосовують для прочитання результатів дослідження кінетики при довжинах хвиль збудження і випускнення 370 нм і 440 нм, відповідно, і при пороговому значенні 420 нм. Результати зчитують протягом 10 хв при кімнатній температурі, здійснюючи сканування кожні 5-10 секунд. Значення V_{max} на секунду відповідає залишковій активності еластази нейтрофілів; його відмічають на графіку для кожної концентрації інгібітора. Перетин з віссю абсцис вказує на концентрацію інгібітора, необхідну для повної інактивації вихідної концентрації еластази нейтрофілів в дослідженні. Отриманий з сироватки людини AAT (sdAAT, serum derived AAT) застосовували як позитивний контроль в цих дослідженнях. Злиті білки "AAT-Fc" мають здатність інгібувати еластазу нейтрофілів, як показано на Фігурі 1C. При зв'язуванні двох поліпептидів AAT з одним поліпептидом Fc (AAT-Fc-AAT) здатність інгібувати еластазу нейтрофілів посилюється в порівнянні як з sdAAT, так і зі злитим білком "AAT-Fc", що містить єдиний поліпептид AAT (Фігура 1E). Представлені тут дослідження уперше демонструють, що AAT можна зв'язати з ділянкою Fc при збереженні здатності інгібувати еластазу нейтрофілів. Особливо цікаво, що злитий білок "AAT-Fc-AAT" є сильнішим інгібітором еластази нейтрофілів.

30 [000190] Фігура 1F демонструє стійкість злитого білка "AAT-EL-Fc (M351E, M358L)" до

інактивації при окисненні. Злиті білки AAT, AAT-Fc (wt), AAT-EL-Fc (M351E, M358L) і AAT-EM-Fc (M351E) обробляли 33 mM H₂O₂ і порівнювали з необробленими злитими білками в дослідженнях інгібування еластази нейтрофілів. Інгібування еластази нейтрофілів AAT-EL-Fc не порушувалося при окисненні на відміну від інших досліджуваних білків.

[000191] Також злитий білок "AAT-Fc" мав більш тривалий час напіввиведення з сироватки щурів в порівнянні з AAT, що отримується з сироватки (Фігура 1H). У цих дослідженнях трьом щурам в кожному дослідженні ін'єкували внутрішньовенно 10 мг/кг sdAAT або AAT-Fc. У різні тимчасові точки протягом 48-часового періоду відбирали зразки сироватки. Концентрацію АТТ в сироватці визначали за допомогою ELISA. Отримані результати демонструють, що злиті білки даного винаходу мають поліпшені фармакокінетичні властивості і терапевтичну форму, що перевершує отримуваний з сироватки AAT, відносно багатьох запальних станів й інфекційних захворювань людини.

Приклад 2: злиті білки "AAT-діюча на TNF α молекула»

[000192] Дослідження, представлені в даній заявці, описують декілька не обмежувальних прикладів рекомбінантних похідних AAT, що містять людський AAT, зв'язаний з антитілом до TNF α або з похідним рецептора TNF α . Ці приклади представлені нижче для подальшої ілюстрації різних властивостей даного винаходу. Приклади також ілюструють придатну методологію здійснення даного винаходу. Ці приклади не обмежують і заявлене винаходу і не призначені для обмеження заявленого винаходу.

[000193] Представлені нижче злиті білки включають послідовності діючих на цитокіни поліпептидів з (i) антитіла до TNF α D2E7 (також відомого як адаліумаб або Humira® або (ii) позаклітинного домену рецептора TNF α типу 2 (TNFR2-ECD) або що отримуються з (i) антитіла до TNF α D2E7 (також відомого як адаліумаб або Humira® або (ii) позаклітинного домену рецептора TNF α типу 2 (TNFR2-ECD). Поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений, константні області антитіла (CH1-шарнір-CH2-CH3 або CL) виділені курсивом, а 2E7-VH, D2E7-VK і TNFR2-ECD виділені в тексті жирним шрифтом. В той час як ці приклади включають шарнірну послідовність і/або лінкерну послідовність, злиті білки даного винаходу можна отримувати, застосовуючи будь-яку шарнірну послідовність і/або лінкерну послідовність, відповідну по довжині і/або гнучкості. Альтернативно, злиті білки можна отримувати без застосування шарнірної і/або лінкерної послідовності.

[000194] Приведеним як приклад злитим білком "AAT-TNF α " є "D2E7-легкий ланцюг-AAT лінкер (G₃S)₂", описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), D2E7-VK виділений в тексті жирним шрифтом (SEQ ID NO: 37), а константні області антитіла виділені курсивом (SEQ ID NO: 38).

D2E7-легкий ланцюг-AAT лінкер (G₃S)₂

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLNNFYYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGECGGGSGGGSEDPQGDAQKTDTSHHDDQDHPFTFNKITPNLAEFAFSLYRQLAH
QSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSLGTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLT
TGNGFLFLSEGLKLVDFLEDVKKLYHSEAFVNFVGDTEEAQKQINDYVEKGTQGGKIVDLVKELDRDTV
FALVNYIFFKGKWERPFVVKDTEEDFHVDQVTTVKVPMMKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNA
TAIFFLPDEGKLQHLLENELTHDIITKFLNEDRRSASLHLPKLSITGTLDKSVLGQLGITKVFNSGADLS
GVTEEAAPLKLSKAVHKAVLTIDEKGTAAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKV
VNPTQK (SEQ ID NO:22)

[000195] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-TNF α " є "D2E7-легкий ланцюг-AAT лінкер ASTGS", описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), D2E7-VK виділений в тексті жирним шрифтом (SEQ ID NO: 37), а константні області антитіла виділені курсивом (SEQ ID NO: 38).

D2E7-легкий ланцюг-AAT лінкер ASTGS

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLNNFYYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
GLSSPVTKSFNRGECASGSEDPQGDAQKTDTSHHDDQDHPFTFNKITPNLAEFAFSLYRQLAHQSN
TNIFFSPVSIATAFAMLSLGTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNG
LFLSEGLKLVDFLEDVKKLYHSEAFVNFVGDTEEAQKQINDYVEKGTQGGKIVDLVKELDRDTV
FALVNYIFFKGKWERPFVVKDTEEDFHVDQVTTVKVPMMKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNA
TAIFFLPDEGKLQHLLENELTHDIITKFLNEDRRSASLHLPKLSITGTLDKSVLGQLGITKVFNSGADLS
GVTEEAAPLKLSKAVHKAVLTIDEKGTAAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKV
VNPTQK (SEQ ID NO:23)

[000196] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-TNF α " є "D2E7-важкий ланцюг-AAT лінкер (G₃S)₂", описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), D2E7-VH виділений в тексті жирним шрифтом (SEQ ID NO: 39), а константні області антитіла виділені курсивом (SEQ ID NO: 40).

5 D2E7-важкий ланцюг-AAT лінкер (G₃S)₂

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADS
VEGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
10 VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGEDPQ
GDAAQKTDTSHHDDQDHPTFNKIPNLAFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSLGTAKADTH
DEILEGLNLFNLTEIPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNGLFLSEGLKLVDFKLEDVKKLYHSEAF
15 TVNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDRTVFALVNYIFFKGKWERPFVKDTEEDFHVD
QVTTVKVPMMKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAIAIFFLPDEGKLQHLLENELTHDIITKFLNED
RRSASLHLPKLSITGTIDYDLKSVLGQLGITKVFNSGADLSGVTEEAAPLKLSKAVHKAVLTIDEKGTEAAG
AMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQK (SEQ ID NO:24)

[000197] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-TNF α " є "D2E7-важкий ланцюг-AAT лінкер ASTGS", описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), D2E7-VH виділений в тексті жирним шрифтом (SEQ ID NO: 39), а константні області антитіла виділені курсивом (SEQ ID NO: 40).

D2E7-важкий ланцюг-AAT лінкер ASTGS

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADS
25 VEGRTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVF
PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
30 PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKASTGSEDPQGDAA
QKTDTSHHDDQDHPTFNKIPNLAFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSLGTAKADTHDEIL
EGLNLFNLTEIPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNGLFLSEGLKLVDFKLEDVKKLYHSEAFVN
FGDTEEAQKQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDRTVFALVNYIFFKGKWERPFVKDTEEDFHVDQVT
TVKVPMMKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAIAIFFLPDEGKLQHLLENELTHDIITKFLNEDRRS
35 ASLHLPKLSITGTIDYDLKSVLGQLGITKVFNSGADLSGVTEEAAPLKLSKAVHKAVLTIDEKGTEAAGAMF
LEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQK (SEQ ID NO: 25)

[000149] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-TNF α " є "TNFR2-ECD-Fc1-AAT лінкер (G₃S)₂", описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), TNFR2-ECD виділений в тексті жирним шрифтом (SEQ ID NO: 41), а константні області антитіла виділені курсивом (SEQ ID NO: 42).

TNFR2-ECD-Fc1-AAT лінкер (G₃S)₂

LPAQVAFTPYAPEPGSTCRLREYYDQTAQMCCSKCSPGQHAKVFCTKTSDTVCDSCEDSTYTQL
WNWVPECLSCGSRCSDDQVETQACTREQNRICTRPGWYCALSKQEGCRLCAPLRKCRPGFGVA
RPGTETSDVVCPCAPGTFSNTTSSTDICRPHQICNVVAIPGNASMDAVCTSTSPTRSMAPGAVHLP
45 QPVSTRSQHTQPTPEPSTAPSTSFLPMGPSPPAEGSTGDEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPQVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQNWLDGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGKGGSGGGSGEDPQGDAAQKTDTSHHDDQDHPTFNKIPNLAFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFS
50 PVSIAATAFAMLSLGTAKADTHDEILEGLNLFNLTEIPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNGLFLSEG
LKLVDKLEDVKKLYHSEAFVNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDRTVFALVNYIFFKG
KWERPFVKDTEEDFHVDQVTTVKVPMMKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAIAIFFLPDEGK
LQHLLENELTHDIITKFLNEDRRSASLHLPKLSITGTIDYDLKSVLGQLGITKVFNSGADLSGVTEEAAPLK
SKAVHKAVLTIDEKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQK (SEQ
55 ID NO: 26)

[000150] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-TNF α " є "TNFR2-ECD-Fc1-AAT лінкер ASTGS", описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), TNFR2-ECD виділений в тексті жирним шрифтом (SEQ ID NO: 41), а константні області антитіла виділені курсивом (SEQ ID NO: 42).

TNFR2-ECD-Fc1-AAT лінкер ASTGS

LPAQVAFTPYAPEPGSTCRLREYYDQTAQMCCSKCSPGQHAKVFCTKTSDTVCDSCEDSTYTQL
WNWVPECLSCGSRCSDDQVETQACTREQNRICTRPGWYCALSKQEGCRLCAPLRKCRPGFGVA
RPGTETSDVVCKPCAPGTFSNTTSSTDICRPHQICNVVAIPGNASMDAVCTSTSPTRSMAPGAVHLP
QPVSTRSQHTQPTPEPSTAPSTSFLPMGPPSPAEGSTGDEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
5 FPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPQVKFNWYVDGQVQVHNAKTKPREQQYNSTYRVVSVLTV
LHQNWLDGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGKASTGSEDPOGDAAQKTDTSHHDDQDHPTFNKITPNLAFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSI
ATAFAMLSLGTAKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNQPDSQLQLTTGNGLFLSEGLKL
10 VDKFLEDVKKLYHSEAFTVNFQDTEEAQKQINDYVEKGTQGGKIVDLVKELDRDTVFALVNIYFFKQKW
ERPFEVKDTEEDFHVDQVTTVKVPMMKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAIAIFFLPDEGKLQ
HLENELTHDIITKFLNEDRRSASLHLPKLSITGTLDKSVLGQLGITKVFNSGADLSGVTEEAAPLKLSK
AVHKAFLTIDEKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQK (SEQ ID
NO:27)

[000198] Ці наведені як приклади злиті білки "AAT-діюча на TNF α молекула" отримували, застосовуючи наступні техніки.

[000199] Гени, які кодують варіабельну ділянку важкого ланцюга (VH, variable heavy) і варіабельну ділянку каппа-ланцюга (VK, variable kappa) антитіла D2E7 до TNF α отримували за допомогою синтезу генів. Ген D2E7-VH клонували в рамці з геном, що кодує константну область важкого ланцюга людського IgG1, що складається з домену CH1, шарнірного домену, домену CH2 і домену CH3, у вектор для експресії в ссавцях, що містить послідовність секреторного сигналу ссавців, розташованої вище сайту для вставки домену VH (D2E7-HC). Ген D2E7-VK клонували в рамці з константним доменом легкого каппа-ланцюга людського антитіла (CL) у вектор для експресії в ссавцях, що містить послідовність секреторного сигналу ссавців, розташованої вище сайту для вставки домену VK (D2E7-LC). Ген, який кодує AAT, і розташований поруч на 5'-кінці лінкерну послідовність клонували в рамці з 3'-кінця кодуючої послідовності або домену CH3 гена важкого ланцюга D2E7 (D2E7-HC-AAT), або домену CL гена легкого ланцюга D2E7 (D2E7-LC-AAT) в описані вище вектори для експресії в ссавцях. Позаклітинний домен рецептора TNF α 2 (TNFR2-ECD) отримували за допомогою синтезу гена і клонували в рамці з геном, що кодує шарнірну область, за якою розташовується домен CH2 і домен CH3 людського IgG1 (hFc1) у вектор для експресії в ссавцях, що містить послідовність секреторного сигналу ссавців, розташованої вище сайту для вставки TNFR2-ECD. Ген, який кодує AAT, і розташований поруч на 5'-кінці лінкерну послідовність клонували в рамці з 3'-кінця гена, що кодує TNFR2-ECD-hFc1, у вектор для експресії в ссавцях (TNFR2-ECD-hFc1-AAT).

[000200] Проводили котрансфекцію клітин ссавців (а саме клітин HEK293 або CHO) експресійним вектором D2E7-HC-AAT або з експресійним вектором D2E7-LC, або з експресійним вектором D2E7-LC-AAT для отримання антитіла D2E7 з AAT, зв'язаним з C-кінцем важкого ланцюга або C-кінцем як важкого, так і легкого ланцюга, відповідно. Проводили котрансфекцію клітин ссавців D2E7-LC-AAT з експресійним вектором D2E7-HC для отримання антитіла D2E7 з AAT, зв'язаним з C-кінцем легкого ланцюга. Проводили трансфекцію клітин ссавців експресійним вектором TNFR2-hFc1-AAT. Трансфіковані клітини вирощували протягом декількох днів при 8 % CO₂ при 37 °C.

[000201] Рекombінантні злиті з AAT діючі на TNF α білки очищували з супернатанта експресуючих клітин за допомогою хроматографії на протеїні А. Застосовували буфер з близьким до нейтрального значенням pH (Gentle Ag/Ab Elution Buffer, Thermo Scientific) для елювання злитих з AAT діючих на TNF α білків зі смоли з протеїном А.

[000202] Фігура 2В показує результати електрофорезу в ПААГ в присутності додецилсульфату натрію з антитілом D2E7 в індивідуальному вигляді (доріжка 1) і з варіантом, в якому AAT злитий з важким ланцюгом D2E7 (доріжка 2). Білки візуалізували за допомогою фарбування Кумасі синім.

[000203] Очищені злиті білки "AAT-діюча на TNF α молекула" досліджували на предмет активності, визначаючи їх здатність інгібувати еластазу нейтрофілів. Виділений з сироватки AAT (sdAAT, serum derived AAT) застосовували як позитивний контроль в цих дослідженнях. Дослідження інгібування еластази нейтрофілів проводили, як описано вище. Фігура 2С показує дані відносно sdAAT: злитий білок "AAT-діюча на TNF α молекула" виявляє схоже інгібування еластази нейтрофілів, що свідчить про те, що інгібуюча здатність AAT не порушується при зв'язуванні з антитілом.

Приклад 3: "AAT-Fc-SLPI" і "AAT-Fc-елафін"

[000204] Дослідження, представлені в даній заявці, описують декілька не обмежувальних прикладів похідних рекombінантного AAT, що містять людський AAT, зв'язаний з білком, що

містить домен WAP. Ці приклади представлені нижче для подальшої ілюстрації різних властивостей даного винаходу. Приклади також ілюструють корисну методологію здійснення даного винаходу. Поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений, Fc, що є частиною злитого білка, виділений курсивом, а поліпептид, що містить домен WAP, виділений жирним шрифтом. У той час як ці приклади включають шарнірну послідовність і/або лінкерну послідовність, злиті білки даного винаходу можна отримувати, застосовуючи будь-яку шарнірну послідовність і/або лінкерну послідовність, придатну по довжині і/або гнучкості. Альтернативно, злиті білки можна отримувати без застосування шарнірної і/або лінкерної послідовності. Наприклад, можна напряду з'єднувати поліпептидні компоненти.

[000205] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-Fc-SLPI" є AAT-hFc1-SLPI (Fc людського IgG1), описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), Fc, що є частиною злитого білка, виділений курсивом (SEQ ID NO: 3), а поліпептид, що містить домен WAP, виділений жирним шрифтом (SEQ ID NO: 9).

AAT-hFc1-SLPI (Fc людського IgG1)

EDPQGDAQAQKTDTSHHDDQDHTFNKITPNLAEFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
 GTKADTHDEILEGLNLFNLTEIPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNGFLFLSEGLKLVDKFLEDVK
 KLYHSEAFVTNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDVTVALVNYIFFKGKWERPFVEVKDT
 EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAITFFLPDEGKLQHLENELTHDI
 ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVFNSGADLSGVTEEAAPLKLSKAVHKAULTID
 EKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKEPKSCDKTHTCPPCP
 APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEA
 LHNHYTQKSLSLSPGKASTGSSGKSFKAGVCPPKKSAQCLRYKKPECQSDWQCPGKKRCCPDTCGI
 KCLDPVDTPNPTRRKPGKCPVTYGGQCLMLNPPNFCCEMDGQCKRDLKCCMGCMGKSCVSPVKA
 (SEQ ID NO:28)

[000206] Наведеним як приклад злитим білком "AAT-Fc-SLPI" є AAT-hFc1-SLPI (Fc людського IgG1), описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид AAT, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), Fc, що є частиною злитого білка, виділений курсивом (SEQ ID NO: 3), а поліпептид, що містить домен WAP, виділений жирним шрифтом (SEQ ID NO: 12).

AAT-hFc1-елафін (Fc людського IgG1)

EDPQGDAQAQKTDTSHHDDQDHTFNKITPNLAEFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
 GTKADTHDEILEGLNLFNLTEIPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNGFLFLSEGLKLVDKFLEDVK
 KLYHSEAFVTNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDVTVALVNYIFFKGKWERPFVEVKDT
 EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAITFFLPDEGKLQHLENELTHDI
 ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVFNSGADLSGVTEEAAPLKLSKAVHKAULTID
 EKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKEPKSCDKTHTCPPCP
 APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEA
 LHNHYTQKSLSLSPGKASTGSAVTGVPVKGQDVTVKGRVPFNGQDPVKGQVSVKGQDKVKAQEPVK
 GPVSTKPGSCPIILIRCAMLNPPNRLKDTDCPGIKKCCGSCGMACFVPQ (SEQ ID NO:29)

[000207] Гени, які кодують SLPI і елафін, ампліфікували за допомогою ПЛР з кДНК селезінки людини (Zuagen). Ці гени клонували у вектор для експресії у ссавців з Прикладу 1, в якому ген SLPI або елафіну вставляли в рамці з геном AAT-Fc. Цими експресійними векторами трансфікували клітини ссавців (а саме клітини HEK293 або CHO) і вирощували протягом декількох днів при 8 % CO₂ при 37 °C. Рекombінантні злиті білки "AAT-Fc-домен WAP" виділяли з супернатанта експерсуючих клітин за допомогою хроматографії на протеїні A. Застосовували буфер з близьким до нейтрального значенням pH (Gentle Ag/Ab Elution Buffer, Thermo Scientific) для елювання злитого білка "AAT-Fc-домен WAP" зі смоли з протеїном A.

[000208] Фігура 3В показує результати електрофорезу в ПААГ в присутності додецилсульфату натрію зі злитими білками "AAT-Fc-домен WAP" (доріжка 1: AAT-Fc-елафін, доріжка 2: AAT-Fc-SLPI). Білки візуалізували за допомогою фарбування Кумасі синім. Очищені злиті білки "AAT-Fc-домен WAP" досліджували на предмет активності, визначаючи їх здатність інгібувати еластазу нейтрофілів. Дослідження інгібування еластази нейтрофілів проводили, як описано вище. Виділений з сироватки людини AAT (sdAAT, serum derived AAT) і злитий білок "AAT-Fc" застосовували як позитивний контроль в цих дослідженнях. Відносно sdAAT злитий білок "AAT-Fc-діюча на WAP молекула" виявляє більш виражену активність відносно інгібування

еластази нейтрофілів (Фігура 3С).

Приклад 4: "ААТ-альбумін»

[000209] Дослідження, представлені в даній заявці, описують декілька не обмежувальних прикладів похідних рекомбінантного ААТ, що містять людський ААТ, зв'язаний з поліпептидом альбуміну. Ці приклади представлені нижче для подальшої ілюстрації різних властивостей даного винаходу. Приклади також ілюструють корисну методологію здійснення даного винаходу. Ці приклади не обмежують даний винахід і не призначені для обмеження заявленого винаходу. ААТ, що є частиною злитого білка, підкреслений, альбумін, що є частиною злитого білка, виділений курсивом. Наприклад, можна напряду з'єднувати поліпептидні компоненти.

[000210] Наведеним як приклад злитим білком "ААТ-альбумін" є ААТ-HSA, описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид ААТ, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), поліпептид альбуміну, що є частиною злитого білка, виділений курсивом (SEQ ID NO: 14).

ААТ-HSA

EDPQGDAQKTDTSHHDDQDHTFNKITPNLAEFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
GTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNGFLFSEGLKLVDFKLEDVK
KLYHSEAFVTNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDTVFALVNYIFFKGKWERPFVVDKDT
EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAITAFLLPDEGKLQHLLENELTHDI
ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVFSGADLSGVTEEAFLKLSKAVHKAULTID
EKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKASTGSDAHKSEVAHR
FKDLGEENFKALVLIAFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVA
TLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLOHKDDNPPLRVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAARR
HPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKASLQKFGERAFFK
AWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKEVTECHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCE
KPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPALADVFESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLRLR
LAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVP
QVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVN
RRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDF
AAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL (SEQ ID NO: 30)

[000211] Наведеним як приклад злитим білком "ААТ-альбумін" є "ААТ- домен 3 HSA", описаний в даній заявці. Як показано нижче, поліпептид ААТ, що є частиною злитого білка, підкреслений (SEQ ID NO: 2), поліпептид альбуміну, що є частиною злитого білка, виділений курсивом (SEQ ID NO: 15).

ААТ-домен 3 HSA

EDPQGDAQKTDTSHHDDQDHTFNKITPNLAEFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSL
GTKADTHDEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLRTLNPQDSQLQLTTGNGFLFSEGLKLVDFKLEDVK
KLYHSEAFVTNFGDTEEAQKQINDYVEKGTQGKIVDLVKELDRDTVFALVNYIFFKGKWERPFVVDKDT
EEEDFHVDQVTTVKVPMMLKRLGMFNIQHCKKLSSWVLLMKYLGNAITAFLLPDEGKLQHLLENELTHDI
ITKFLENEDRRSASLHLPKLSITGTDLKSVLGQLGITKVFSGADLSGVTEEAFLKLSKAVHKAULTID
EKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFMGKVVNPTQKASTGSEEPQNLKQNL
CELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLN
QLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQ
TALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVA (SEQ ID NO:31)

[000212] Ген, який кодує людський сироватковий альбумін (HSA, human serum albumin), ампліфікували за допомогою ПЛР з кДНК печінки людини (Zyagen). Отримували вектор для експресії у ссавцях, в якому ген, який кодує HSA або домен 3 HSA, клонували в рамці з 3'-кінця кодуєчого ААТ гена, що містить послідовність секреторного сигналу ссавців, розташовану вище ААТ.

[000213] Цими експресійними векторами трансфікували клітини ссавців (а саме клітини HEK293 або CHO) і вирощували протягом декількох днів при 8 % CO₂ при 37 °C. Рекомбінантні злиті білки "ААТ-HSA" виділяли з супернатанта експерсуючих клітин за допомогою альфа-1-антитрипсинової афінної матриці CaptureSelect® (BAC BV), при цьому буфер для зв'язування складався з 20 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7,4, а буфер для елювання складався з 20 mM Tris, 2M MgCl₂ pH 7,4.

[000214] Фігура 4В показує результати електрофорезу в ПААГ в присутності додецилсульфату натрію зі злитим білком "ААТ-HSA". Білки візуалізували за допомогою фарбування Кумасі синім. Очищені злиті білки "ААТ-HSA" досліджували на предмет активності, визначаючи їх здатність інгібувати еластазу нейтрофілів. Дослідження інгібування еластази нейтрофілів проводили, як описано вище. Виділений з сироватки людини ААТ (sdAAT, serum derived AAT) застосовували як позитивний контроль в цих дослідженнях. Відносно sdAAT злитий

білок "AAT-HSA" виявляє схожу активність відносно інгібування еластази нейтрофілів, вказуючи на те, що зв'язування з альбуміном не заважає ААТ інгібувати еластазу нейтрофілів (Фігура 4С).

Інші варіанти здійснення даного винаходу

- [000215] У той час як даний винахід був описаний разом з його детальним описом, наведений вище опис призначений для ілюстрації, але не для обмеження об'єму винаходу, що визначається об'ємом прикладеної формули винаходу. Інші аспекти, переваги і модифікації входять в об'єм наступної формули винаходу.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

10 <110> Inhibrx LP

Eckelman, Brendan P.

Timmer, John C.

15 Deveraux, Quinn

20 <120> ЗЛИТІ СЕРПІНОВІ ПОЛІПЕПТИДИ І СПОСОБИ ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

<130> INHI-002/002WO

25 <150> US 14/524,832

<151> 2014-10-27

30 <160> 80

35 <170> PatentIn version 3.5

<210> 1

40 <211> 25

<212> БІЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

45 <223> послідовність петлі реактивного сайту

<400> 1

Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser

50 1 5 10 15

Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys

20 25

55

<210> 2

<211> 390

<212> БІЛОК

60 <213> Homo sapiens

<400> 2

5 Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
 1 5 10 15

 10 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
 20 25 30

 15 Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
 35 40 45

 20 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
 50 55 60

 25 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
 65 70 75 80

 30 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
 85 90 95

 35 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
 100 105 110

 40 Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
 115 120 125

 45 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
 130 135 140

 50 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
 145 150 155 160

 55 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
 165 170 175

 60 Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
 180 185 190

 65 Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
 195 200 205

 70 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
 210 215 220

Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240

5 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255

10 Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270

15 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285

20 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300

30 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320

35 Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335

40 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe
 340 345 350

45 Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365

50 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380

55 Met Gly Lys Val Val Asn
 385 390

60 <210> 3
 <211> 217
 <212> БІЛОК
 <213> Homo sapiens

65 <400> 3

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15

70 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

5 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

10 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

15 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

20 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
115 120 125

25 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

30 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

35 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

40 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

45 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

50 <210> 4
<211> 216
<212> БІЛОК
<213> Homo sapiens

55 <400> 4

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

60

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 20 25 30
 5 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
 35 40 45
 10 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 50 55 60
 15 Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln
 65 70 75 80
 20 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
 85 90 95
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
 100 105 110
 25 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 115 120 125
 30 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 130 135 140
 35 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 145 150 155 160
 40 Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 165 170 175
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 180 185 190
 45 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 195 200 205
 50 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215
 55 <210> 5
 <211> 217
 <212> БІЛОК
 <213> Homo sapiens
 60 <400> 5

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

5 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

10 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
35 40 45

15 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

20 Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

25 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
100 105 110

30 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

35 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

40 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

45 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
180 185 190

50 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
195 200 205

55 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 6
<211> 217
60 <212> БІЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 6

```

5  Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
   1         5         10        15

10 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
   20        25        30

15 Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
   35        40        45

20 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
   50        55        60

25 Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
   65        70        75        80

30 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
   85        90        95

35 Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
   100       105       110

40 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
   115       120       125

45 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
   130       135       140

50 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
   145       150       155       160

55 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
   165       170       175

60 Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
   180       185       190

   Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
   195       200       205

   Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
   210       215

```

<210> 7
 <211> 218
 <212> БІЛОК
 5 <213> Homo sapiens

 <400> 7

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

 Gly Phe Phe Gly Asn Pro Arg Lys Ser Lys Leu Ile Cys Gln Ala Thr
 15 20 25 30

 Gly Phe Ser Pro Arg Gln Ile Gln Val Ser Trp Leu Arg Glu Gly Lys
 35 40 45

 20 Gln Val Gly Ser Gly Val Thr Thr Asp Gln Val Gln Ala Glu Ala Lys
 50 55 60

 25 Glu Ser Gly Pro Thr Thr Tyr Lys Val Thr Ser Thr Leu Thr Ile Lys
 65 70 75 80

 30 Glu Ser Asp Trp Leu Gly Gln Ser Met Phe Thr Cys Arg Val Asp His
 85 90 95

 Arg Gly Leu Thr Phe Gln Gln Asn Ala Ser Ser Met Cys Val Pro Asp
 100 105 110
 35

 Gln Asp Thr Ala Ile Arg Val Phe Ala Ile Pro Pro Ser Phe Ala Ser
 115 120 125

 40 Ile Phe Leu Thr Lys Ser Thr Lys Leu Thr Cys Leu Val Thr Asp Leu
 130 135 140

 45 Thr Thr Tyr Asp Ser Val Thr Ile Ser Trp Thr Arg Gln Asn Gly Glu
 145 150 155 160

 Ala Val Lys Thr His Thr Asn Ile Ser Glu Ser His Pro Asn Ala Thr
 50 165 170 175

 Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala Ser Ile Cys Glu Asp Asp Trp Asn Ser
 180 185 190
 55

 Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr Val Thr His Thr Asp Leu Pro Ser Pro
 195 200 205
 60

Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg Pro Lys Gly
 210 215
 5
 <210> 8
 <211> 132
 <212> БІЛОК
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 8
 Met Lys Ser Ser Gly Leu Phe Pro Phe Leu Val Leu Leu Ala Leu Gly
 1 5 10 15
 15
 Thr Leu Ala Pro Trp Ala Val Glu Gly Ser Gly Lys Ser Phe Lys Ala
 20 25 30
 20
 Gly Val Cys Pro Pro Lys Lys Ser Ala Gln Cys Leu Arg Tyr Lys Lys
 35 40 45
 25
 Pro Glu Cys Gln Ser Asp Trp Gln Cys Pro Gly Lys Lys Arg Cys Cys
 50 55 60
 30
 Pro Asp Thr Cys Gly Ile Lys Cys Leu Asp Pro Val Asp Thr Pro Asn
 65 70 75 80
 35
 Pro Thr Arg Arg Lys Pro Gly Lys Cys Pro Val Thr Tyr Gly Gln Cys
 85 90 95
 40
 Leu Met Leu Asn Pro Pro Asn Phe Cys Glu Met Asp Gly Gln Cys Lys
 100 105 110
 45
 Arg Asp Leu Lys Cys Cys Met Gly Met Cys Gly Lys Ser Cys Val Ser
 115 120 125
 50
 Pro Val Lys Ala
 130
 55
 <210> 9
 <211> 107
 <212> БІЛОК
 <213> Homo sapiens
 <400> 9
 60
 Ser Gly Lys Ser Phe Lys Ala Gly Val Cys Pro Pro Lys Lys Ser Ala
 1 5 10 15

Gln Cys Leu Arg Tyr Lys Lys Pro Glu Cys Gln Ser Asp Trp Gln Cys
20 25 30

5 Pro Gly Lys Lys Arg Cys Cys Pro Asp Thr Cys Gly Ile Lys Cys Leu
35 40 45

10 Asp Pro Val Asp Thr Pro Asn Pro Thr Arg Arg Lys Pro Gly Lys Cys
50 55 60

15 Pro Val Thr Tyr Gly Gln Cys Leu Met Leu Asn Pro Pro Asn Phe Cys
65 70 75 80

Glu Met Asp Gly Gln Cys Lys Arg Asp Leu Lys Cys Cys Met Gly Met
85 90 95

20 Cys Gly Lys Ser Cys Val Ser Pro Val Lys Ala
100 105

25 <210> 10
<211> 51
<212> PRT
<213> Homo sapiens

30 <400> 10

Thr Arg Arg Lys Pro Gly Lys Cys Pro Val Thr Tyr Gly Gln Cys Leu
1 5 10 15

35 Met Leu Asn Pro Pro Asn Phe Cys Glu Met Asp Gly Gln Cys Lys Arg
20 25 30

40 Asp Leu Lys Cys Cys Met Gly Met Cys Gly Lys Ser Cys Val Ser Pro
35 40 45

45 Val Lys Ala
50

50 <210> 11
<211> 117
<212> БІЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 11

55 Met Arg Ala Ser Ser Phe Leu Ile Val Val Val Phe Leu Ile Ala Gly
1 5 10 15

60 Thr Leu Val Leu Glu Ala Ala Val Thr Gly Val Pro Val Lys Gly Gln
20 25 30

Asp Thr Val Lys Gly Arg Val Pro Phe Asn Gly Gln Asp Pro Val Lys
 35 40 45
 5
 Gly Gln Val Ser Val Lys Gly Gln Asp Lys Val Lys Ala Gln Glu Pro
 50 55 60
 10
 Val Lys Gly Pro Val Ser Thr Lys Pro Gly Ser Cys Pro Ile Ile Leu
 65 70 75 80
 15 Ile Arg Cys Ala Met Leu Asn Pro Pro Asn Arg Cys Leu Lys Asp Thr
 85 90 95
 20 Asp Cys Pro Gly Ile Lys Lys Cys Cys Glu Gly Ser Cys Gly Met Ala
 100 105 110
 Cys Phe Val Pro Gln
 115
 25
 <210> 12
 <211> 95
 <212> БІЛОК
 30 <213> Homo sapiens
 <400> 12
 Ala Val Thr Gly Val Pro Val Lys Gly Gln Asp Thr Val Lys Gly Arg
 1 5 10 15
 35
 Val Pro Phe Asn Gly Gln Asp Pro Val Lys Gly Gln Val Ser Val Lys
 20 25 30
 40
 Gly Gln Asp Lys Val Lys Ala Gln Glu Pro Val Lys Gly Pro Val Ser
 35 40 45
 45
 Thr Lys Pro Gly Ser Cys Pro Ile Ile Leu Ile Arg Cys Ala Met Leu
 50 55 60
 50 Asn Pro Pro Asn Arg Cys Leu Lys Asp Thr Asp Cys Pro Gly Ile Lys
 65 70 75 80
 55 Lys Cys Cys Glu Gly Ser Cys Gly Met Ala Cys Phe Val Pro Gln
 85 90 95
 <210> 13
 <211> 48
 60 <212> БІЛОК

<213> Homo sapiens

<400> 13

5 Val Ser Thr Lys Pro Gly Ser Cys Pro Ile Ile Leu Ile Arg Cys Ala
1 5 10 15

10 Met Leu Asn Pro Pro Asn Arg Cys Leu Lys Asp Thr Asp Cys Pro Gly
20 25 30

Ile Lys Lys Cys Cys Glu Gly Ser Cys Gly Met Ala Cys Phe Val Pro
35 40 45
15

<210> 14

<211> 585

<212> БЛОК

20 <213> Homo sapiens

<400> 14

25 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30
30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

35 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

40 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

45 Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110
50

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

55 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

60

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160

 5 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175

 10 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190

 15 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205

 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220

 20 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240

 25 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255

 30 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270

 35 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285

 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300

 40 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320

 45 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335

 50 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350

 55 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365

 60 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

5 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

10 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

15 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

20 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

25 Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

30 Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

35 Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

40 Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

45 Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

50 Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 15
<211> 196
55 <212> БІЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 15

60

	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln
	1		5			10			15							
5	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys
		20			25			30								
10	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val	Glu	Val	Ser	Arg	Asn
		35			40			45								
15	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg
	50		55		60											
20	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys
	65		70		75			80								
25	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg	Val	Thr	Lys	Cys	Cys
		85			90			95								
30	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala	Leu	Glu	Val
		100			105			110								
35	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe
	115				120			125								
40	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys
	130				135			140								
45	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys
	145			150			155		160							
50	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala	Ala	Phe	Val	Glu	Lys
		165			170			175								
55	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys
		180			185			190								
60	Lys	Leu	Val	Ala												
		195														
	<210>	16														
	<211>	626														
	<212>	БІЛОК														
	<213>	Штучна послідовність														
	<220>															
	<223>	Злитий білок AAT-hFc1														

<400> 16

5 Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
 1 5 10 15

 10 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
 20 25 30

 15 Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
 35 40 45

 20 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
 50 55 60

 25 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
 65 70 75 80

 30 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
 85 90 95

 35 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
 100 105 110

 40 Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
 115 120 125

 45 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
 130 135 140

 50 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
 145 150 155 160

 55 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
 165 170 175

 60 Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
 180 185 190

 65 Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
 195 200 205

 70 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
 210 215 220

 75 Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240

5 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255
 10 Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270
 15 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285
 20 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320
 25 Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335
 30 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe
 340 345 350
 35 Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365
 40 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380
 45 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 385 390 395 400
 50 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 405 410 415
 55 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 420 425 430
 60 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 435 440 445
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 450 455 460

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 465 470 475 480

 5 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 485 490 495

 10 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 500 505 510

 15 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 515 520 525

 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 530 535 540
 20
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 545 550 555 560

 25 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 565 570 575

 30 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 580 585 590

 35 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 595 600 605

 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 610 615 620
 40
 Gly Lys
 625

 45
 <210> 17
 <211> 622
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 50
 <220>
 <223> Злитий білок AAT-hFc2

 <400> 17
 55
 Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
 1 5 10 15

 60

Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
 20 25 30
 5 Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
 35 40 45
 10 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
 50 55 60
 15 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
 65 70 75 80
 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
 85 90 95
 20 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
 100 105 110
 25 Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
 115 120 125
 30 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
 130 135 140
 35 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
 145 150 155 160
 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
 165 170 175
 40 Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
 180 185 190
 45 Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
 195 200 205
 50 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
 210 215 220
 55 Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240
 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255
 60

Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270

5 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285

10 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300

15 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320

Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335

20 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe
 340 345 350

25 Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365

30 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380

35 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Glu Arg Lys Cys Cys Val
 385 390 395 400

Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 405 410 415

40 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 420 425 430

45 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 435 440 445

50 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 450 455 460

55 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
 465 470 475 480

Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 485 490 495

60

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
500 505 510

5 Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
515 520 525

10 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
530 535 540

15 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
545 550 555 560

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
565 570 575

20 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
580 585 590

25 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
595 600 605

30 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
610 615 620

<210> 18
<211> 626
35 <212> БІЛОК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Злитий білок AAT-MM-EL-hFc1
40 <400> 18

Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
1 5 10 15

45 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
20 25 30

50 Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
35 40 45

55 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
50 55 60

60 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
65 70 75 80

Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
 85 90 95
 5
 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
 100 105 110
 10
 Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
 115 120 125
 15
 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
 130 135 140
 20
 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
 145 150 155 160
 25
 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
 165 170 175
 30
 Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
 180 185 190
 35
 Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
 195 200 205
 40
 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
 210 215 220
 45
 Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240
 50
 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255
 55
 Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270
 60
 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285
 65
 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300
 70
 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320

Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335
 5
 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Glu Phe
 340 345 350
 10
 Leu Glu Ala Ile Pro Leu Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365
 15
 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380
 20
 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 385 390 395 400
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 405 410 415
 25
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 420 425 430
 30
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 435 440 445
 35
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 450 455 460
 40
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 465 470 475 480
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 485 490 495
 45
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 500 505 510
 50
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 515 520 525
 55
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 530 535 540
 60
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 545 550 555 560

5 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 565 570 575

 10 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 580 585 590

 15 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 595 600 605

 20 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 610 615 620

 25 Gly Lys
 625

 30 <210> 19
 <211> 622
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Злитий білок AAT-MM-EL-hFc2

 35 <400> 19

 Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
 1 5 10 15

 40 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
 20 25 30

 Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
 35 40 45

 45 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
 50 55 60

 50 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
 65 70 75 80

 55 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
 85 90 95

 60 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
 100 105 110

Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
115 120 125

5 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
130 135 140

10 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
145 150 155 160

15 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
165 170 175

20 Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
180 185 190

Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
195 200 205

25 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
210 215 220

30 Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
225 230 235 240

35 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
245 250 255

Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
260 265 270

40 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
275 280 285

45 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
290 295 300

50 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
305 310 315 320

55 Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
325 330 335

60 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Glu Phe
340 345 350

Leu Glu Ala Ile Pro Leu Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365

 5 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380

 10 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Glu Arg Lys Cys Cys Val
 385 390 395 400

 15 Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 405 410 415

 20 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 420 425 430

 25 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 450 455 460

 30 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
 465 470 475 480

 35 Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 485 490 495

 40 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 500 505 510

 45 Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 515 520 525

 50 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 530 535 540

 55 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 545 550 555 560

 60 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
 565 570 575

 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 580 585 590

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
595 600 605

5 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
610 615 620

10 <210> 20
<211> 622
<212> БІЛОК
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<223> Злитий білок AAT-MM:LL-hFc2

<400> 20

20 Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
1 5 10 15

25 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
20 25 30

Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
35 40 45

30 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
50 55 60

35 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
65 70 75 80

40 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
85 90 95

45 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
100 105 110

Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
115 120 125

50 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
130 135 140

55 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
145 150 155 160

60 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
165 170 175

Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
 180 185 190
 5
 Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
 195 200 205
 10
 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
 210 215 220
 15 Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240
 20 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255
 25 Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270
 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285
 30 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300
 35 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320
 40 Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335
 45 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Leu Phe
 340 345 350
 Leu Glu Ala Ile Pro Leu Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365
 50 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380
 55 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Glu Arg Lys Cys Cys Val
 385 390 395 400
 60 Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 405 410 415

5 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 420 425 430
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 435 440 445
 10 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 450 455 460
 15 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
 465 470 475 480
 20 Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 485 490 495
 25 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 500 505 510
 Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 515 520 525
 30 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 530 535 540
 35 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 545 550 555 560
 40 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
 565 570 575
 45 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 580 585 590
 50 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 595 600 605
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 610 615 620
 55 <210> 21
 <211> 1025
 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність
 60 <220>

<223> Злитий білок AAT-hFc1-AAT

<400> 21

5 Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
1 5 10 15

10 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
20 25 30

15 Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
35 40 45

Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
50 55 60

20 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
65 70 75 80

25 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
85 90 95

30 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
100 105 110

35 Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
115 120 125

Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
130 135 140

40 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
145 150 155 160

45 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
165 170 175

50 Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
180 185 190

55 Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
195 200 205

His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
210 215 220

60

Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240

 5 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255

 10 Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270

 15 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285

 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300

 20 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320

 25 Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335

 30 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe
 340 345 350

 35 Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365

 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380

 40 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 385 390 395 400

 45 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 405 410 415

 50 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 420 425 430

 55 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 435 440 445

 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 450 455 460

 60

	Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
	465 470 475 480
5	Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
	485 490 495
10	Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
	500 505 510
15	Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
	515 520 525
20	Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
	530 535 540
25	Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
	545 550 555 560
30	Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
	565 570 575
35	Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
	580 585 590
40	Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
	595 600 605
45	Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
	610 615 620
50	Gly Lys Ala Ser Thr Gly Ser Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln
	625 630 635 640
55	Lys Thr Asp Thr Ser His His Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys
	645 650 655
60	Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu
	660 665 670
65	Ala His Gln Ser Asn Ser Thr Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile
	675 680 685
70	Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His
	690 695 700

	Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu
	705 710 715 720
5	Ala Gln Ile His Glu Gly Phe Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln
	725 730 735
10	Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser
	740 745 750
15	Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu
	755 760 765
20	Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala
	770 775 780
	Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile
	785 790 795 800
25	Val Asp Leu Val Lys Glu Leu Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val
	805 810 815
30	Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys
	820 825 830
35	Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys
	835 840 845
40	Val Pro Met Met Lys Arg Leu Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys
	850 855 860
	Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr
	865 870 875 880
45	Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn
	885 890 895
50	Glu Leu Thr His Asp Ile Ile Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg
	900 905 910
55	Arg Ser Ala Ser Leu His Leu Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr
	915 920 925
60	Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser
	930 935 940

Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu
 945 950 955 960

5 Ser Lys Ala Val His Lys Ala Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr
 965 970 975

10 Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro
 980 985 990

15 Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln
 995 1000 1005

20 Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr
 1010 1015 1020

Gln Lys
 1025

25 <210> 22
 <211> 616
 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність

30 <220>
 <223> D2E7-легкий ланцюг-AAT лінкер (G3S)2
 <400> 22

35 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

40 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
 20 25 30

45 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

50 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

55 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
 85 90 95

60 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

5 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

 10 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

 15 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

 20 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

 25 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

 30 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

 35 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Asp
 210 215 220

 40 Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His Asp Gln
 225 230 235 240

 45 Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu Phe Ala
 245 250 255

 50 Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr Asn Ile
 260 265 270

 55 Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu Ser Leu
 275 280 285

 60 Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu Asn Phe
 290 295 300

 65 Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe Gln Glu
 305 310 315 320

 70 Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu Thr Thr
 325 330 335

 75 Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp Lys Phe
 340 345 350

5 Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr Val Asn
 355 360 365
 Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr Val Glu
 370 375 380
 10 Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu Asp Arg
 385 390 395 400
 15 Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly Lys Trp
 405 410 415
 20 Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe His Val
 420 425 430
 Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu Gly Met
 435 440 445
 25 Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu Leu Met
 450 455 460
 30 Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp Glu Gly
 465 470 475 480
 35 Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile Thr Lys
 485 490 495
 40 Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu Pro Lys
 500 505 510
 Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly Gln Leu
 515 520 525
 45 Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly Val Thr
 530 535 540
 50 Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala Val Leu
 545 550 555 560
 55 Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe Leu Glu
 565 570 575
 60 Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys Pro Phe
 580 585 590

Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe Met Gly
 595 600 605
 5
 Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys
 610 615
 10
 <210> 23
 <211> 613
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 15
 <220>
 <223> D2E7-легкий ланцюг-AAT лінкер ASTGS
 <400> 23
 20
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 25 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
 20 25 30
 30 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 35
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 40
 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
 85 90 95
 45 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 50 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 55
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 60

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

 5 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

 10 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

 15 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ala Ser Thr Gly Ser Glu Asp Pro Gln Gly
 210 215 220

 20 Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His Asp Gln Asp His Pro
 225 230 235 240

 25 Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu Phe Ala Phe Ser Leu
 245 250 255

 30 Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr Asn Ile Phe Phe Ser
 260 265 270

 35 Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu Ser Leu Gly Thr Lys
 275 280 285

 40 Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu Asn Phe Asn Leu Thr
 290 295 300

 45 Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe Gln Glu Leu Leu Arg
 305 310 315 320

 50 Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu Thr Thr Gly Asn Gly
 325 330 335

 55 Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp Lys Phe Leu Glu Asp
 340 345 350

 60 Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr Val Asn Phe Gly Asp
 355 360 365

 Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr Val Glu Lys Gly Thr
 370 375 380

 Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu Asp Arg Asp Thr Val
 385 390 395 400

Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly Lys Trp Glu Arg Pro
 405 410 415
 5 Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe His Val Asp Gln Val
 420 425 430
 10 Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu Gly Met Phe Asn Ile
 435 440 445
 15 Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu Leu Met Lys Tyr Leu
 450 455 460
 Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp Glu Gly Lys Leu Gln
 465 470 475 480
 20 His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile Thr Lys Phe Leu Glu
 485 490 495
 25 Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu Pro Lys Leu Ser Ile
 500 505 510
 30 Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly Gln Leu Gly Ile Thr
 515 520 525
 Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly Val Thr Glu Glu Ala
 530 535 540
 35 Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala Val Leu Thr Ile Asp
 545 550 555 560
 40 Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe Leu Glu Ala Ile Pro
 565 570 575
 45 Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys Pro Phe Val Phe Leu
 580 585 590
 50 Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe Met Gly Lys Val Val
 595 600 605
 55 Asn Pro Thr Gln Lys
 610
 <210> 24
 <211> 853
 <212> БІЛОК
 60 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> D2E7-важкий ланцюг-AAT лінкер (G3S)2

5 <400> 24

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

10

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

15

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

20

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

25

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

30

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

35

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

40

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

45

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

50

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

55

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

60

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

5 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255
 10 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 15 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 20 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300
 25 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335
 30 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 35 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 40 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 45 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 50 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 55 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 60 Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Asp Pro Gln Gly
 450 455 460

Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His Asp Gln Asp His Pro
 465 470 475 480
 5
 Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu Phe Ala Phe Ser Leu
 485 490 495
 10
 Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr Asn Ile Phe Phe Ser
 500 505 510
 15
 Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu Ser Leu Gly Thr Lys
 515 520 525
 20
 Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu Asn Phe Asn Leu Thr
 530 535 540
 25
 Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe Gln Glu Leu Leu Arg
 545 550 555 560
 30
 Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu Thr Thr Gly Asn Gly
 565 570 575
 35
 Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp Lys Phe Leu Glu Asp
 580 585 590
 40
 Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr Val Asn Phe Gly Asp
 595 600 605
 45
 Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr Val Glu Lys Gly Thr
 610 615 620
 50
 Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu Asp Arg Asp Thr Val
 625 630 635 640
 55
 Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly Lys Trp Glu Arg Pro
 645 650 655
 60
 Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe His Val Asp Gln Val
 660 665 670
 65
 Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu Gly Met Phe Asn Ile
 675 680 685
 70
 Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu Leu Met Lys Tyr Leu
 690 695 700

Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp Glu Gly Lys Leu Gln
 705 710 715 720
 5
 His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile Thr Lys Phe Leu Glu
 725 730 735
 10
 Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu Pro Lys Leu Ser Ile
 740 745 750
 15 Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly Gln Leu Gly Ile Thr
 755 760 765
 20 Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly Val Thr Glu Glu Ala
 770 775 780
 25 Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala Val Leu Thr Ile Asp
 785 790 795 800
 Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe Leu Glu Ala Ile Pro
 805 810 815
 30 Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys Pro Phe Val Phe Leu
 820 825 830
 35 Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe Met Gly Lys Val Val
 835 840 845
 40 Asn Pro Thr Gln Lys
 850
 <210> 25
 <211> 850
 45 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> D2E7-важкий ланцюг-AAT лінкер ASTGS
 50 <400> 25
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 55 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 60

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

5 Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

10 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

15 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

20 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

25 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

30 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

35 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

40 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

45 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

50 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

55 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

60

	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val	
	275 280 285	
5	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr	
	290 295 300	
10	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly	
	305 310 315 320	
15	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile	
	325 330 335	
20	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val	
	340 345 350	
25	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser	
	355 360 365	
30	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu	
	370 375 380	
35	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro	
	385 390 395 400	
40	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val	
	405 410 415	
45	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met	
	420 425 430	
50	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser	
	435 440 445	
55	Pro Gly Lys Ala Ser Thr Gly Ser Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala	
	450 455 460	
60	Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn	
	465 470 475 480	
	Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln	
	485 490 495	
	Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser	
	500 505 510	

Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr
515 520 525

5 His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro
530 535 540

10 Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn
545 550 555 560

Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu
565 570 575

15 Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys
580 585 590

20 Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu
595 600 605

25 Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys
610 615 620

Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu
30 625 630 635 640

Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val
645 650 655

35 Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe His Val Asp Gln Val Thr Thr Val
660 665 670

40 Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys
675 680 685

45 Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala
690 695 700

Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu
50 705 710 715 720

Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp
725 730 735

55 Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr
740 745 750

60

Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe
 755 760 765
 5 Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys
 770 775 780
 10 Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly
 785 790 795 800
 15 Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile
 805 810 815
 Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu
 820 825 830
 20 Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr
 835 840 845
 25 Gln Lys
 850
 30 <210> 26
 <211> 869
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 35 <220>
 <223> TNFR2-ECD-Fc1-AAT лінкер (G3S)2
 <400> 26
 40 Leu Pro Ala Gln Val Ala Phe Thr Pro Tyr Ala Pro Glu Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 45 Thr Cys Arg Leu Arg Glu Tyr Tyr Asp Gln Thr Ala Gln Met Cys Cys
 20 25 30
 Ser Lys Cys Ser Pro Gly Gln His Ala Lys Val Phe Cys Thr Lys Thr
 35 40 45
 50 Ser Asp Thr Val Cys Asp Ser Cys Glu Asp Ser Thr Tyr Thr Gln Leu
 50 55 60
 55 Trp Asn Trp Val Pro Glu Cys Leu Ser Cys Gly Ser Arg Cys Ser Ser
 65 70 75 80
 60 Asp Gln Val Glu Thr Gln Ala Cys Thr Arg Glu Gln Asn Arg Ile Cys
 85 90 95

Thr Cys Arg Pro Gly Trp Tyr Cys Ala Leu Ser Lys Gln Glu Gly Cys
 100 105 110
 5

Arg Leu Cys Ala Pro Leu Arg Lys Cys Arg Pro Gly Phe Gly Val Ala
 115 120 125
 10

Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val Cys Lys Pro Cys Ala Pro
 130 135 140
 15

Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr Asp Ile Cys Arg Pro His
 145 150 155 160
 20

Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala Ser Met Asp Ala
 165 170 175
 25

Val Cys Thr Ser Thr Ser Pro Thr Arg Ser Met Ala Pro Gly Ala Val
 180 185 190
 30

His Leu Pro Gln Pro Val Ser Thr Arg Ser Gln His Thr Gln Pro Thr
 195 200 205
 35

Pro Glu Pro Ser Thr Ala Pro Ser Thr Ser Phe Leu Leu Pro Met Gly
 210 215 220
 40

Pro Ser Pro Pro Ala Glu Gly Ser Thr Gly Asp Glu Pro Lys Ser Cys
 225 230 235 240
 45

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 245 250 255
 50

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270
 55

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 275 280 285
 60

Glu Asp Pro Gln Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Gln Val
 290 295 300
 65

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Gln Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 305 310 315 320
 70

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asn Trp Leu Asp Gly
 325 330 335

5 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 340 345 350
 10 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 355 360 365
 15 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 370 375 380
 20 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 385 390 395 400
 25 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 405 410 415
 30 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 420 425 430
 35 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445
 40 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460
 45 Pro Gly Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Asp Pro Gln Gly
 465 470 475 480
 50 Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His Asp Gln Asp His Pro
 485 490 495
 55 Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu Phe Ala Phe Ser Leu
 500 505 510
 60 Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr Asn Ile Phe Phe Ser
 515 520 525
 65 Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu Ser Leu Gly Thr Lys
 530 535 540
 70 Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu Asn Phe Asn Leu Thr
 545 550 555 560
 75 Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe Gln Glu Leu Leu Arg
 565 570 575

Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu Thr Thr Gly Asn Gly
 580 585 590
 5
 Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp Lys Phe Leu Glu Asp
 595 600 605
 10
 Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr Val Asn Phe Gly Asp
 610 615 620
 15
 Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr Val Glu Lys Gly Thr
 625 630 635 640
 20
 Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu Asp Arg Asp Thr Val
 645 650 655
 25
 Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly Lys Trp Glu Arg Pro
 660 665 670
 30
 Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe His Val Asp Gln Val
 675 680 685
 35
 Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu Gly Met Phe Asn Ile
 690 695 700
 40
 Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu Leu Met Lys Tyr Leu
 705 710 715 720
 45
 Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp Glu Gly Lys Leu Gln
 725 730 735
 50
 His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile Thr Lys Phe Leu Glu
 740 745 750
 55
 Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu Pro Lys Leu Ser Ile
 755 760 765
 60
 Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly Gln Leu Gly Ile Thr
 770 775 780
 65
 Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly Val Thr Glu Glu Ala
 785 790 795 800
 70
 Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala Val Leu Thr Ile Asp
 805 810 815

Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe Leu Glu Ala Ile Pro
 820 825 830
 5
 Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys Pro Phe Val Phe Leu
 835 840 845
 10
 Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe Met Gly Lys Val Val
 850 855 860
 15 Asn Pro Thr Gln Lys
 865
 <210> 27
 20 <211> 866
 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 25 <223> TNFR2-ECD-Fc1-AAT лінкер ASTGS
 <400> 27
 Leu Pro Ala Gln Val Ala Phe Thr Pro Tyr Ala Pro Glu Pro Gly Ser
 30 1 5 10 15
 Thr Cys Arg Leu Arg Glu Tyr Tyr Asp Gln Thr Ala Gln Met Cys Cys
 20 25 30
 35
 Ser Lys Cys Ser Pro Gly Gln His Ala Lys Val Phe Cys Thr Lys Thr
 35 40 45
 40
 Ser Asp Thr Val Cys Asp Ser Cys Glu Asp Ser Thr Tyr Thr Gln Leu
 50 55 60
 45 Trp Asn Trp Val Pro Glu Cys Leu Ser Cys Gly Ser Arg Cys Ser Ser
 65 70 75 80
 Asp Gln Val Glu Thr Gln Ala Cys Thr Arg Glu Gln Asn Arg Ile Cys
 50 85 90 95
 Thr Cys Arg Pro Gly Trp Tyr Cys Ala Leu Ser Lys Gln Glu Gly Cys
 100 105 110
 55
 Arg Leu Cys Ala Pro Leu Arg Lys Cys Arg Pro Gly Phe Gly Val Ala
 115 120 125
 60

	Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val Cys Lys Pro Cys Ala Pro
	130 135 140
5	Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr Asp Ile Cys Arg Pro His
	145 150 155 160
10	Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala Ser Met Asp Ala
	165 170 175
15	Val Cys Thr Ser Thr Ser Pro Thr Arg Ser Met Ala Pro Gly Ala Val
	180 185 190
20	His Leu Pro Gln Pro Val Ser Thr Arg Ser Gln His Thr Gln Pro Thr
	195 200 205
25	Pro Glu Pro Ser Thr Ala Pro Ser Thr Ser Phe Leu Leu Pro Met Gly
	210 215 220
30	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
	245 250 255
35	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
	260 265 270
40	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
	275 280 285
45	Glu Asp Pro Gln Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Gln Val
	290 295 300
50	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Gln Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
	305 310 315 320
55	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asn Trp Leu Asp Gly
	325 330 335
60	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
	340 345 350
	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
	355 360 365

	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
	370 375 380
5	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
	385 390 395 400
10	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
	405 410 415
15	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
	420 425 430
20	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
	435 440 445
25	Pro Gly Lys Ala Ser Thr Gly Ser Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala
	465 470 475 480
30	Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn
	485 490 495
35	Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln
	500 505 510
40	Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser
	515 520 525
45	Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr
	530 535 540
50	His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro
	545 550 555 560
55	Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn
	565 570 575
60	Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu
	580 585 590
65	Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys
	595 600 605

Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu
 610 615 620

5 Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys
 625 630 635 640

10 Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu
 645 650 655

15 Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val
 660 665 670

Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe His Val Asp Gln Val Thr Thr Val
 675 680 685

20 Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys
 690 695 700

25 Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala
 705 710 715 720

30 Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu
 725 730 735

35 Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp
 740 745 750

Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr
 755 760 765

40 Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe
 770 775 780

45 Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys
 785 790 795 800

50 Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly
 805 810 815

55 Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile
 820 825 830

60 Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu
 835 840 845

Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr
850 855 860

5 Gln Lys
865

10 <210> 28
<211> 738
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<223> AAT-hFc1-SLPI

<400> 28

20 Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
1 5 10 15

25 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
20 25 30

Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
35 40 45

30 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
50 55 60

35 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
65 70 75 80

40 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
85 90 95

45 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
100 105 110

Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
115 120 125

50 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
130 135 140

55 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
145 150 155 160

60 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
165 170 175

Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
 180 185 190
 5
 Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
 195 200 205
 10
 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
 210 215 220
 15 Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240
 20 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255
 25 Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270
 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285
 30 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300
 35 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320
 40 Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335
 45 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe
 340 345 350
 Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365
 50 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380
 55 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 385 390 395 400
 60 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 405 410 415

5 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 420 425 430
 10 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 435 440 445
 15 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 450 455 460
 20 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 485 490 495
 25 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 500 505 510
 30 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 515 520 525
 35 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 530 535 540
 40 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 545 550 555 560
 45 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 565 570 575
 50 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 580 585 590
 55 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 595 600 605
 60 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 610 615 620
 65 Gly Lys Ala Ser Thr Gly Ser Ser Gly Lys Ser Phe Lys Ala Gly Val
 625 630 635 640
 70 Cys Pro Pro Lys Lys Ser Ala Gln Cys Leu Arg Tyr Lys Lys Pro Glu
 645 650 655

Cys Gln Ser Asp Trp Gln Cys Pro Gly Lys Lys Arg Cys Cys Pro Asp
 660 665 670
 5
 Thr Cys Gly Ile Lys Cys Leu Asp Pro Val Asp Thr Pro Asn Pro Thr
 675 680 685
 10
 Arg Arg Lys Pro Gly Lys Cys Pro Val Thr Tyr Gly Gln Cys Leu Met
 690 695 700
 15
 Leu Asn Pro Pro Asn Phe Cys Glu Met Asp Gly Gln Cys Lys Arg Asp
 705 710 715 720
 20
 Leu Lys Cys Cys Met Gly Met Cys Gly Lys Ser Cys Val Ser Pro Val
 725 730 735
 Lys Ala
 25
 <210> 29
 <211> 726
 <212> БІЛОК
 30 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> AAT-hFc1-елафін
 35 <400> 29
 Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
 1 5 10 15
 40
 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
 20 25 30
 45
 Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
 35 40 45
 50
 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
 50 55 60
 55
 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
 65 70 75 80
 60
 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
 85 90 95

Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
100 105 110

5 Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
115 120 125

10 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
130 135 140

15 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
145 150 155 160

Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
165 170 175

20 Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
180 185 190

25 Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
195 200 205

30 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
210 215 220

35 Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
225 230 235 240

Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
245 250 255

40 Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
260 265 270

45 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
275 280 285

50 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
290 295 300

55 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
305 310 315 320

Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
325 330 335

60

Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe
340 345 350

5 Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
355 360 365

10 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
370 375 380

15 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Glu Pro Lys Ser Cys Asp
385 390 395 400

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
405 410 415

20 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
420 425 430

25 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
435 440 445

30 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
450 455 460

35 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
465 470 475 480

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
485 490 495

40 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
500 505 510

45 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
515 520 525

50 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
530 535 540

55 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
545 550 555 560

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
565 570 575

60

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 580 585 590

5 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 595 600 605

10 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 610 615 620

15 Gly Lys Ala Ser Thr Gly Ser Ala Val Thr Gly Val Pro Val Lys Gly
 625 630 635 640

Gln Asp Thr Val Lys Gly Arg Val Pro Phe Asn Gly Gln Asp Pro Val
 645 650 655

20 Lys Gly Gln Val Ser Val Lys Gly Gln Asp Lys Val Lys Ala Gln Glu
 660 665 670

25 Pro Val Lys Gly Pro Val Ser Thr Lys Pro Gly Ser Cys Pro Ile Ile
 675 680 685

30 Leu Ile Arg Cys Ala Met Leu Asn Pro Pro Asn Arg Cys Leu Lys Asp
 690 695 700

35 Thr Asp Cys Pro Gly Ile Lys Lys Cys Cys Glu Gly Ser Cys Gly Met
 705 710 715 720

Ala Cys Phe Val Pro Gln
 725

40 <210> 30
 <211> 984
 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність

45 <220>
 <223> AAT-HSA

50 <400> 30

Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
 1 5 10 15

55 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
 20 25 30

60 Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
 35 40 45

5 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
 50 55 60
 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
 65 70 75 80
 10 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
 85 90 95
 15 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
 100 105 110
 Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
 115 120 125
 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
 130 135 140
 25 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
 145 150 155 160
 30 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
 165 170 175
 35 Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
 180 185 190
 Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
 195 200 205
 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
 210 215 220
 45 Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240
 50 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255
 55 Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270
 60 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285

5 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300

 10 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320

 15 Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335

 20 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe
 340 345 350

 25 Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365

 30 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380

 35 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Ala Ser Thr Gly Ser Asp
 385 390 395 400

 40 Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu
 405 410 415

 45 Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln
 420 425 430

 50 Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe
 435 440 445

 55 Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser
 450 455 460

 60 Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg
 465 470 475 480

 65 Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu
 485 490 495

 70 Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro
 500 505 510

 75 Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp
 515 520 525

Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg
 530 535 540
 5
 His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr
 545 550 555 560
 10
 Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys
 565 570 575
 15
 Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser
 580 585 590
 20
 Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg
 595 600 605
 25
 Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys
 610 615 620
 30
 Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val
 625 630 635 640
 35
 His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg
 645 650 655
 40
 Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser
 660 665 670
 45
 Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys
 675 680 685
 50
 Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu
 690 695 700
 55
 Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu
 705 710 715 720
 60
 Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg
 725 730 735
 65
 His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr
 740 745 750
 70
 Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys
 755 760 765

Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln
 770 775 780
 5

Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr
 785 790 795 800

10

Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln
 805 810 815

15

Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val
 820 825 830

20

Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala
 835 840 845

Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu
 850 855 860

25

Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu
 865 870 875 880

30

Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr
 885 890 895

35

Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile
 900 905 910

40

Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu
 915 920 925

Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys
 930 935 940

45

Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala
 945 950 955 960

50

Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala
 965 970 975

55

Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
 980

60

<210> 31
 <211> 595

<212> БЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> ААТ-домен 3 HSA

<400> 31

10 Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
1 5 10 15

15 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
20 25 30

Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
35 40 45

20 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
50 55 60

25 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
65 70 75 80

30 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
85 90 95

Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
100 105 110

35 Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
115 120 125

40 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
130 135 140

45 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
145 150 155 160

50 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
165 170 175

55 Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
180 185 190

Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
195 200 205

60

	His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
	210 215 220
5	Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
	225 230 235 240
10	Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
	245 250 255
15	Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
	260 265 270
20	Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
	275 280 285
25	Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
	290 295 300
30	Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
	305 310 315 320
35	Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
	325 330 335
40	Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Met Phe
	340 345 350
45	Leu Glu Ala Ile Pro Met Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
	355 360 365
50	Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
	370 375 380
55	Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Ala Ser Thr Gly Ser Glu
	385 390 395 400
60	Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu
	405 410 415
	Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys
	420 425 430
	Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu
	435 440 445

Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met
450 455 460

5 Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val
465 470 475 480

10 Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr
485 490 495

15 Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp
500 505 510

Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His
515 520 525

20 Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln
530 535 540

25 Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu
545 550 555 560

30 Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys
565 570 575

35 Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys
580 585 590

Leu Val Ala
595

40 <210> 32
<211> 25
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

45 <220>
<223> варіант послідовності петлі реактивного сайту

<400> 32

50 Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Glu Phe Leu Glu Ala Ile Pro Leu Ser
1 5 10 15

55 Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
20 25

60 <210> 33
<211> 25

<212> БЛОК

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> варіант послідовності петлі реактивного сайту

<400> 33

10 Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Leu Phe Leu Glu Ala Ile Pro Leu Ser
1 5 10 15

Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
20 25
15

<210> 34

<211> 394

<212> БЛОК

20 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> AAT-MM-EL пептид

25 <400> 34

Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
1 5 10 15

30 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
20 25 30

35 Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
35 40 45

40 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
50 55 60

Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
65 70 75 80
45

Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
85 90 95

50 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
100 105 110

55 Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
115 120 125

60 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
130 135 140

Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
 145 150 155 160
 5

Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
 165 170 175
 10

Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
 180 185 190
 15

Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
 195 200 205
 20

His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
 210 215 220
 25

Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240
 30

Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255
 35

Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270
 40

Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285
 45

Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300
 50

Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320
 55

Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335
 60

Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Glu Phe
 340 345 350
 65

Leu Glu Ala Ile Pro Leu Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365
 70

Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380

Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys
385 390

5

<210> 35
<211> 394
<212> БЛОК
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> AAT-MM-LL пептид

15 <400> 35

Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
1 5 10 15

20 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
20 25 30

25 Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
35 40 45

30 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
50 55 60

Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
65 70 75 80

35 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
85 90 95

40 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
100 105 110

45 Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
115 120 125

Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
50 130 135 140

Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
145 150 155 160

55 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
165 170 175

60

Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
 180 185 190
 5 Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
 195 200 205
 10 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
 210 215 220
 15 Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240
 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255
 20 Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270
 25 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285
 30 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300
 35 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320
 Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335
 40 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Leu Phe
 340 345 350
 45 Leu Glu Ala Ile Pro Leu Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365
 50 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380
 55 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys
 385 390
 <210> 36
 <211> 626
 <212> БІЛОК
 60 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Злитий білок ААТ-ММ-LL-hFc1

5 <400> 36

Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
1 5 10 15

10

Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
20 25 30

15

Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
35 40 45

20

Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
50 55 60

25

Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
65 70 75 80

Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
85 90 95

30

Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
100 105 110

35

Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
115 120 125

40

Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
130 135 140

45

Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
145 150 155 160

Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
165 170 175

50

Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
180 185 190

55

Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
195 200 205

60

His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
210 215 220

Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240
 5
 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255
 10
 Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270
 15 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285
 20 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300
 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320
 25 Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335
 30 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Leu Phe
 340 345 350
 35 Leu Glu Ala Ile Pro Leu Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365
 40 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380
 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 385 390 395 400
 45 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 405 410 415
 50 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 420 425 430
 55 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 435 440 445
 60 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 450 455 460

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 465 470 475 480
 5
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 485 490 495
 10
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 500 505 510
 15
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 515 520 525
 20
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 530 535 540
 25
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 545 550 555 560
 30
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 565 570 575
 35
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 580 585 590
 40
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 595 600 605
 45
 Gly Lys
 625
 <210> 37
 <211> 107
 <212> БЛОК
 50 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> D2E7-VK легкого ланцюга
 55 <400> 37
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 60

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

5 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

10 Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

15 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

20 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

25 <210> 38
<211> 106
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<223> константна область антитіла
<400> 38

35 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

40 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

45 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

50 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

55 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

60 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu
100 105

<210> 39
 <211> 116
 5 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> D2E7-VH важкого ланцюга
 10
 <400> 39

 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30
 20
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 25 Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 30 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 35
 Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 40
 Gln Gly Thr Leu
 115
 45 <210> 40
 <211> 335
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 50 <220>
 <223> константна область антитіла
 <400> 40
 55 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 1 5 10 15
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 20 25 30
 60

5 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 35 40 45
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 50 55 60
 10 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 65 70 75 80
 15 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 85 90 95
 20 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 100 105 110
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 25 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 130 135 140
 30 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 35 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 165 170 175
 40 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 180 185 190
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 195 200 205
 45 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 210 215 220
 50 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 225 230 235 240
 55 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 245 250 255
 60 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 260 265 270

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 275 280 285
 5
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 290 295 300
 10
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 305 310 315 320
 15 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330 335
 <210> 41
 20 <211> 235
 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 25 <223> TNFR2-позаклітинний домен
 <400> 41
 Leu Pro Ala Gln Val Ala Phe Thr Pro Tyr Ala Pro Glu Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 30
 Thr Cys Arg Leu Arg Glu Tyr Tyr Asp Gln Thr Ala Gln Met Cys Cys
 20 25 30
 35
 Ser Lys Cys Ser Pro Gly Gln His Ala Lys Val Phe Cys Thr Lys Thr
 35 40 45
 40
 Ser Asp Thr Val Cys Asp Ser Cys Glu Asp Ser Thr Tyr Thr Gln Leu
 50 55 60
 45 Trp Asn Trp Val Pro Glu Cys Leu Ser Cys Gly Ser Arg Cys Ser Ser
 65 70 75 80
 Asp Gln Val Glu Thr Gln Ala Cys Thr Arg Glu Gln Asn Arg Ile Cys
 85 90 95
 50
 Thr Cys Arg Pro Gly Trp Tyr Cys Ala Leu Ser Lys Gln Glu Gly Cys
 100 105 110
 55
 Arg Leu Cys Ala Pro Leu Arg Lys Cys Arg Pro Gly Phe Gly Val Ala
 115 120 125
 60

Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val Cys Lys Pro Cys Ala Pro
130 135 140

5 Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr Asp Ile Cys Arg Pro His
145 150 155 160

10 Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala Ser Met Asp Ala
165 170 175

15 Val Cys Thr Ser Thr Ser Pro Thr Arg Ser Met Ala Pro Gly Ala Val
180 185 190

20 His Leu Pro Gln Pro Val Ser Thr Arg Ser Gln His Thr Gln Pro Thr
195 200 205

Pro Glu Pro Ser Thr Ala Pro Ser Thr Ser Phe Leu Leu Pro Met Gly
210 215 220

25 Pro Ser Pro Pro Ala Glu Gly Ser Thr Gly Asp
225 230 235

30 <210> 42
<211> 232
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

35 <220>
<223> константна область антитіла

<400> 42

40 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

45 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

50 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Gln Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
50 55 60

55 Asp Gly Val Gln Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Gln Gln
65 70 75 80

60 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asn Trp Leu Asp Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 100 105 110
 5
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 115 120 125
 10
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 130 135 140
 15
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 145 150 155 160
 20
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 165 170 175
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 180 185 190
 25
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 195 200 205
 30
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 210 215 220
 35
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230
 40
 <210> 43
 <211> 227
 <212> БІЛОК
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 43
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 50
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 55
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 60
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 5 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 10 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 15 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 20 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 25 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 30 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 35 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 40 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 45 <210> 44
 <211> 217
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 50 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG1
 <400> 44
 55 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 60

Pro Lys Asp Thr Leu Ile Ile Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

5 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

10 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

15 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

20 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

25 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
115 120 125

30 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

35 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

40 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

45 Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

50 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 45
<211> 227
55 <212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> модифікований Fc людського IgG1

60

<400> 45

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

 10 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Ile
 20 25 30

 15 Ile Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45

 20 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60

 25 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80

 30 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95

 35 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110

 40 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125

 45 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140

 50 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160

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

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

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

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

Pro Gly Lys
225

5

<210> 46
<211> 216
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

10

<220>
<223> модифікований Fc людського IgG1

<400> 46

15

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1 5 10 15

20

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20 25 30

25

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
35 40 45

30

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
50 55 60

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
65 70 75 80

35

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
85 90 95

40

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
100 105 110

45

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
115 120 125

50

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
130 135 140

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
145 150 155 160

55

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
165 170 175

60

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
180 185 190

5 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
195 200 205

10 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 47
<211> 226
15 <212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> модифікований Fc людського IgG1
20 <400> 47

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
25

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
20 25 30

30 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
35 40 45

35 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
50 55 60

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
40 65 70 75 80

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
85 90 95
45

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
100 105 110

50 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
115 120 125

55 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
130 135 140

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
60 145 150 155 160

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

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

 15 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 195 200 205

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

 25 Gly Lys
 225

 <210> 48
 <211> 217
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність

 30 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG1

 <400> 48

 35 Ala Pro Glu Val Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15

 40 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30

 45 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45

 50 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60

 55 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80

 60 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95

 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
115 120 125

5 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

10 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

15 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

20 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

25 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

30 <210> 49
<211> 227
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

35 <220>
<223> модифікований Fc людського IgG1

<400> 49

40 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Val Ala Gly
1 5 10 15

45 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

50 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

55 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

60

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

5 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

10 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

15 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

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

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

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

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

40 Pro Gly Lys
225

<210> 50
<211> 216
<212> БЛОК
45 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> модифікований Fc людського IgG1

50 <400> 50

Ala Pro Glu Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1 5 10 15

55 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20 25 30

60

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
35 40 45

5 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
50 55 60

10 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
65 70 75 80

15 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
85 90 95

20 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
100 105 110

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
115 120 125

25 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
130 135 140

30 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
145 150 155 160

35 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
165 170 175

40 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
180 185 190

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
195 200 205

45 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

50 <210> 51
<211> 226
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

55 <220>
<223> модифікований Fc людського IgG1

<400> 51

60

	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Val	Ala	Gly
	1			5			10			15						
5	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile
			20			25			30							
	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu
10			35			40			45							
	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His
15		50			55			60								
	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg
	65			70			75			80						
20	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys
			85			90			95							
	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu
25			100			105			110							
	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr
30		115			120			125								
	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu
35		130			135			140								
	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp
	145			150			155			160						
40	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val
			165			170			175							
	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp
45			180			185			190							
	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His
50			195			200			205							
	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
55		210			215			220								
	Gly	Lys														
60	225															

<210> 52
 <211> 216
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність

5

<220>
 <223> модифікований Fc людського IgG1

<400> 52

10

Ala Pro Glu Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 1 5 10 15

15

Lys Asp Thr Leu Ile Ile Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 20 25 30

20

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 35 40 45

25

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 50 55 60

30

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 65 70 75 80

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 85 90 95

35

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 100 105 110

40

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 115 120 125

45

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 130 135 140

50

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 145 150 155 160

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 165 170 175

55

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 180 185 190

60

Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 195 200 205

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215
 5
 <210> 53
 <211> 226
 <212> БЛОК
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG1
 15 <400> 53
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Val Ala Gly
 1 5 10 15
 20 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Ile Ile
 20 25 30
 25 Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 35 40 45
 30 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 50 55 60
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 65 70 75 80
 35 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 85 90 95
 40 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 100 105 110
 45 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 115 120 125
 50 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 130 135 140
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 145 150 155 160
 55 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 165 170 175
 60

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

5 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His
 195 200 205

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

Gly Lys
 225

15

<210> 54
 <211> 216
 <212> БЛОК
 20 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> модифікований Fc людського IgG2

25 <400> 54

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

30 Lys Asp Thr Leu Ile Ile Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 20 25 30

35 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
 35 40 45

40 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 50 55 60

Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln
 65 70 75 80

45

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
 85 90 95

50 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
 100 105 110

55 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 115 120 125

60 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 130 135 140

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 145 150 155 160
 5
 Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 165 170 175
 10
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 180 185 190
 15
 Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 195 200 205
 20
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215
 <210> 55
 <211> 217
 25 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG3
 30 <400> 55
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 35
 Pro Lys Asp Thr Leu Ile Ile Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 40
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
 35 40 45
 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 50
 Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 55
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 60
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
 100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

5 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

10 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

15 Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

20 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
195 200 205

25 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

30 <210> 56
<211> 216
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

35 <220>
<223> модифікований Fc людського IgG3

<400> 56

40 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1 5 10 15

45 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20 25 30

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr Val
35 40 45

50 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
50 55 60

55 Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
65 70 75 80

60 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
85 90 95

5 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
 100 105 110
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 115 120 125
 10 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 130 135 140
 15 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 145 150 155 160
 20 Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 165 170 175
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile Phe
 180 185 190
 25 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys
 195 200 205
 30 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215
 35 <210> 57
 <211> 217
 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність
 40 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG3
 <400> 57
 45 Ala Pro Glu Val Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 50 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
 35 40 45
 55 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60

60

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

5 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

10 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
100 105 110

15 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

20 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

25 Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

30 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
180 185 190

35 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

40
<210> 58
<211> 216
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

45
<220>
<223> модифікований Fc людського IgG3

50
<400> 58

Ala Pro Glu Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1 5 10 15

55 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20 25 30

60 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr Val
35 40 45

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 50 55 60
 5
 Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 65 70 75 80
 10
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 85 90 95
 15
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
 100 105 110
 20
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 115 120 125
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 130 135 140
 25
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 145 150 155 160
 30
 Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 165 170 175
 35
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile Phe
 180 185 190
 40
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys
 195 200 205
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215
 45
 <210> 59
 <211> 216
 <212> БІЛОК
 50 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG3
 55 <400> 59
 Ala Pro Glu Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 1 5 10 15
 60

Lys Asp Thr Leu Ile Ile Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 20 25 30
 5 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr Val
 35 40 45
 10 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 50 55 60
 15 Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 65 70 75 80
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 85 90 95
 20 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
 100 105 110
 25 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 115 120 125
 30 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 130 135 140
 35 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 145 150 155 160
 Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 165 170 175
 40 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile Phe
 180 185 190
 45 Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys
 195 200 205
 50 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 210 215
 <210> 60
 <211> 229
 55 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG4
 60

<400> 60

	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
	1 5 10 15
5	
	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
	20 25 30
10	
	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
	35 40 45
15	
	Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
	50 55 60
20	
	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
	65 70 75 80
25	
	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
	85 90 95
30	
	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
	100 105 110
35	
	Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
	115 120 125
40	
	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
	130 135 140
45	
	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
	145 150 155 160
50	
	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
	165 170 175
55	
	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
	180 185 190
60	
	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
	195 200 205
65	
	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
	210 215 220
70	
	Leu Ser Leu Gly Lys
	225

<210> 61
 <211> 217
 5 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG4
 10
 <400> 61

 Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Ile Ile Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 20
 Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 25
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 30
 Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 35
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95
 40
 Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110
 45
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
 115 120 125
 50
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140
 55
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 145 150 155 160
 60
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175
 Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
 180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

5 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215

10 <210> 62
<211> 229
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<223> модифікований Fc людського IgG4
<400> 62

20 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

25 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

30 Leu Ile Ile Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

35 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60

40 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

45 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95

50 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110

55 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125

60 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140

65 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

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

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

5

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

10

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

15 Leu Ser Leu Gly Lys
225

20 <210> 63
<211> 216
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

25 <220>
<223> модифікований Fc людського IgG4

<400> 63

30 Ala Pro Glu Phe Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1 5 10 15

35 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20 25 30

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
35 40 45

40 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
50 55 60

45 Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
65 70 75 80

50 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
85 90 95

55 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
100 105 110

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
115 120 125

60

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
130 135 140

5 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
145 150 155 160

10 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
165 170 175

15 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
180 185 190

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
195 200 205

20 Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215

25 <210> 64
<211> 228
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<223> модифікований Fc людського IgG4

<400> 64

35 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

40 Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
20 25 30

45 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
35 40 45

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
50 55 60

50 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
65 70 75 80

55 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
85 90 95

60 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 115 120 125
 5
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 130 135 140
 10
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 145 150 155 160
 15
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 165 170 175
 20
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
 180 185 190
 25
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 195 200 205
 30
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 210 215 220
 35
 Ser Leu Gly Lys
 225
 40
 <210> 65
 <211> 217
 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність
 45
 Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 50
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 55
 Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 60
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

5 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

10 Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

15 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

20 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

25 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

30 Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

35 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215

40
<210> 66
<211> 229
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

45
<220>
<223> модифікований Fc людського IgG4

50
<400> 66

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

55 Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

60 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

5 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 50 55 60
 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 65 70 75 80
 10 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 85 90 95
 15 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 100 105 110
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 115 120 125
 20 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 130 135 140
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 145 150 155 160
 30 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 165 170 175
 35 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 180 185 190
 40 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 195 200 205
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 210 215 220
 45 Leu Ser Leu Gly Lys
 225
 50 <210> 67
 <211> 217
 <212> БЛОК
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG4
 60 <400> 67

Ala Pro Glu Val Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

5 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

10 Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

15 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

20 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

25 Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

30 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

35 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

40 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

45 Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

50 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215

55 <210> 68
<211> 229
<212> БІЛОК
60 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> модифікований Fc людського IgG4

5 <400> 68

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Val
1 5 10 15

10

Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

15

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

20

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60

25

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95

30

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110

35

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125

40

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
130 135 140

45

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145 150 155 160

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

50

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

55

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

60

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

Leu Ser Leu Gly Lys
 225
 5
 <210> 69
 <211> 229
 <212> БЛОК
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG4
 15 <400> 69
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
 1 5 10 15
 20 Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 20 25 30
 25 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 35 40 45
 30 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 50 55 60
 35 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 65 70 75 80
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 85 90 95
 40 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 100 105 110
 45 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 115 120 125
 50 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 130 135 140
 55 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 145 150 155 160
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 165 170 175
 60

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
180 185 190

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

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

Leu Ser Leu Gly Lys
225

15

<210> 70
<211> 229
<212> БЛОК
20 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> модифікований Fc людського IgG4

25 <400> 70

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

30 Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

35 Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
40 50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

45 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
85 90 95

50 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
100 105 110

55 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
60 130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 145 150 155 160
 5

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 165 170 175
 10

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 180 185 190
 15

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 195 200 205
 20

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 210 215 220
 25

Leu Ser Leu Gly Lys
 225

<210> 71
 <211> 217
 <212> БЛОК
 30 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG4
 35 <400> 71

Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 40

Pro Lys Asp Thr Leu Ile Ile Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30
 45

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45
 50

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60
 55

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80
 60

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

5 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

10 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

15 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

20 Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

25 Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

30 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215

<210> 72
<211> 229
35 <212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> модифікований Fc людського IgG4
40 <400> 72

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

45 Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
20 25 30

50 Leu Ile Ile Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
35 40 45

55 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
50 55 60

60 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 85 90 95
 5
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 100 105 110
 10
 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 115 120 125
 15
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 130 135 140
 20
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 145 150 155 160
 25
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 165 170 175
 30
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 180 185 190
 35
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 195 200 205
 40
 Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 210 215 220
 45
 Leu Ser Leu Gly Lys
 225
 <210> 73
 <211> 229
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> модифікований Fc людського IgG4
 50
 <400> 73
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
 1 5 10 15
 55
 Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 20 25 30
 60

Leu Ile Ile Ser Arg Asp Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 35 40 45
 5 Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 50 55 60
 10 Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
 65 70 75 80
 Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 85 90 95
 15 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
 100 105 110
 20 Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 115 120 125
 25 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
 130 135 140
 Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 145 150 155 160
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 165 170 175
 35 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
 180 185 190
 40 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 195 200 205
 45 Val Leu His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 210 215 220
 50 Leu Ser Leu Gly Lys
 225
 <210> 74
 <211> 19
 55 <212> БЛОК
 <213> Homo sapiens
 <400> 74
 60

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

5 Gly Pro Ser

10 <210> 75
<211> 18
<212> БЛОК
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<223> IgG1-VA дельта G шарнір
<400> 75

20 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Val Ala Gly
1 5 10 15

Pro Ser
25

<210> 76
<211> 21
<212> БЛОК
30 <213> Homo sapiens
<400> 76

35 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser
20
40

<210> 77
<211> 21
<212> БЛОК
45 <213> Штучна послідовність
<220>
<223> IgG4-шарнір PE
50 <400> 77

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1 5 10 15

55 Glu Gly Gly Pro Ser
20

60

<210> 78
 <211> 624
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність

5

<220>
 <223> AAT-EL-Fc-IgG1-DV,дельта G,IDL

<400> 78

10

Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
 1 5 10 15

15

Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
 20 25 30

20

Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
 35 40 45

25

Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
 50 55 60

Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
 65 70 75 80

30

Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
 85 90 95

35

Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
 100 105 110

40

Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
 115 120 125

45

Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
 130 135 140

Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
 145 150 155 160

50

Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
 165 170 175

55

Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
 180 185 190

60

Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
 195 200 205

5 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
 210 215 220
 Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240
 10 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255
 15 Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270
 20 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285
 25 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300
 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320
 30 Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335
 35 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Glu Phe
 340 345 350
 40 Leu Glu Ala Ile Pro Leu Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365
 45 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380
 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Gly Gly Gly Gly Asp Lys
 385 390 395 400
 50 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Val Ala Gly Pro Ser
 405 410 415
 55 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Ile Ile Ser Arg
 420 425 430
 60 Asp Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 435 440 445

5 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 450 455 460

 10 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 465 470 475 480

 15 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 485 490 495

 20 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 500 505 510

 25 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 515 520 525

 30 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 530 535 540

 35 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 545 550 555 560

 40 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 565 570 575

 45 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 580 585 590

 50 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala
 595 600 605

 55 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 610 615 620

 60 <210> 79
 <211> 623
 <212> БІЛОК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> AAT-EL-Fc-IgG4-PE,IDL

 65 <400> 79

 70 Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
 1 5 10 15

Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
 20 25 30
 5 Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
 35 40 45
 10 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
 50 55 60
 15 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
 65 70 75 80
 Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
 85 90 95
 20 Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
 100 105 110
 25 Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
 115 120 125
 30 Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
 130 135 140
 35 Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
 145 150 155 160
 Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
 165 170 175
 40 Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
 180 185 190
 45 Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
 195 200 205
 50 His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
 210 215 220
 55 Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
 225 230 235 240
 Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
 245 250 255
 60

Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
 260 265 270

5 Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
 275 280 285

10 Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
 290 295 300

15 Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
 305 310 315 320

Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
 325 330 335

20 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Glu Phe
 340 345 350

25 Leu Glu Ala Ile Pro Leu Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
 355 360 365

30 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
 370 375 380

35 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 385 390 395 400

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val
 405 410 415

40 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Ile Ile Ser Arg Asp
 420 425 430

45 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
 435 440 445

50 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 450 455 460

55 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 465 470 475 480

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 485 490 495

60

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
500 505 510

5 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
515 520 525

10 Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
530 535 540

15 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
545 550 555 560

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
565 570 575

20 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
580 585 590

25 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu
595 600 605

30 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
610 615 620

<210> 80
<211> 394
35 <212> БІЛОК
<213> Homo sapiens

<400> 80

40 Glu Asp Pro Gln Gly Asp Ala Ala Gln Lys Thr Asp Thr Ser His His
1 5 10 15

45 Asp Gln Asp His Pro Thr Phe Asn Lys Ile Thr Pro Asn Leu Ala Glu
20 25 30

Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Arg Gln Leu Ala His Gln Ser Asn Ser Thr
35 40 45

50 Asn Ile Phe Phe Ser Pro Val Ser Ile Ala Thr Ala Phe Ala Met Leu
50 55 60

55 Ser Leu Gly Thr Lys Ala Asp Thr His Asp Glu Ile Leu Glu Gly Leu
65 70 75 80

60

	Asn Phe Asn Leu Thr Glu Ile Pro Glu Ala Gln Ile His Glu Gly Phe
	85 90 95
5	Gln Glu Leu Leu Arg Thr Leu Asn Gln Pro Asp Ser Gln Leu Gln Leu
	100 105 110
10	Thr Thr Gly Asn Gly Leu Phe Leu Ser Glu Gly Leu Lys Leu Val Asp
	115 120 125
15	Lys Phe Leu Glu Asp Val Lys Lys Leu Tyr His Ser Glu Ala Phe Thr
	130 135 140
20	Val Asn Phe Gly Asp Thr Glu Glu Ala Lys Lys Gln Ile Asn Asp Tyr
	145 150 155 160
25	Val Glu Lys Gly Thr Gln Gly Lys Ile Val Asp Leu Val Lys Glu Leu
	165 170 175
30	Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Gly
	180 185 190
35	Lys Trp Glu Arg Pro Phe Glu Val Lys Asp Thr Glu Glu Glu Asp Phe
	195 200 205
40	His Val Asp Gln Val Thr Thr Val Lys Val Pro Met Met Lys Arg Leu
	210 215 220
45	Gly Met Phe Asn Ile Gln His Cys Lys Lys Leu Ser Ser Trp Val Leu
	225 230 235 240
50	Leu Met Lys Tyr Leu Gly Asn Ala Thr Ala Ile Phe Phe Leu Pro Asp
	245 250 255
55	Glu Gly Lys Leu Gln His Leu Glu Asn Glu Leu Thr His Asp Ile Ile
	260 265 270
60	Thr Lys Phe Leu Glu Asn Glu Asp Arg Arg Ser Ala Ser Leu His Leu
	275 280 285
	Pro Lys Leu Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Asp Leu Lys Ser Val Leu Gly
	290 295 300
	Gln Leu Gly Ile Thr Lys Val Phe Ser Asn Gly Ala Asp Leu Ser Gly
	305 310 315 320

Val Thr Glu Glu Ala Pro Leu Lys Leu Ser Lys Ala Val His Lys Ala
325 330 335

5 Val Leu Thr Ile Asp Glu Lys Gly Thr Glu Ala Ala Gly Ala Glu Phe
340 345 350

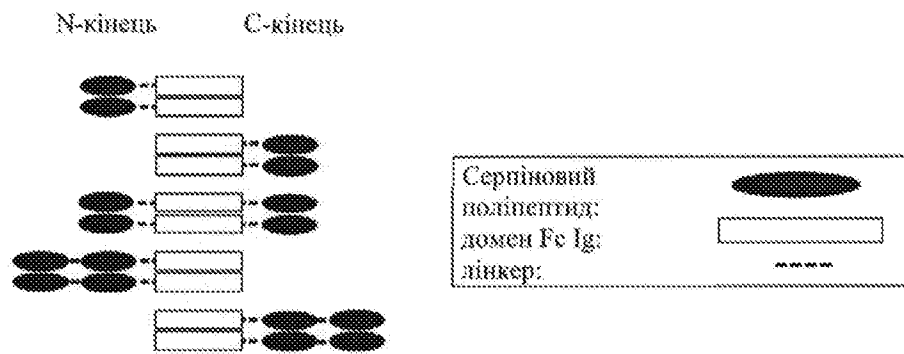
10 Leu Glu Ala Ile Pro Leu Ser Ile Pro Pro Glu Val Lys Phe Asn Lys
355 360 365

15 Pro Phe Val Phe Leu Met Ile Glu Gln Asn Thr Lys Ser Pro Leu Phe
370 375 380

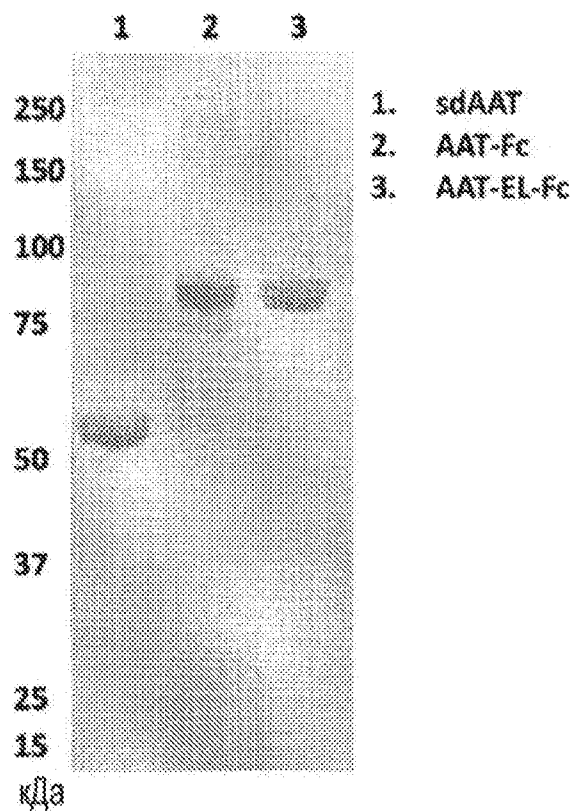
20 Met Gly Lys Val Val Asn Pro Thr Gln Lys
385 390

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Виділений злитий білок, який містить щонайменше один людський серпіновий поліпептид, функціонально зв'язаний з модифікованим поліпептидом Fc людського IgG4, де: модифікований поліпептид Fc людського IgG4 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 70, і де модифікований поліпептид Fc людського IgG4 додатково містить мутацію M252Y або M252I в положенні M252 і мутацію M428L або M428V в положенні M428 згідно з системою нумерації за Kabat; і людський серпіновий поліпептид є поліпептидом людського альфа-1-антитрипсину (AAT) або походить від поліпептиду людського AAT і містить мутацію M351E і мутацію M358L в положеннях, що відповідають положенням M351 і M358 SEQ ID NO: 2, для застосування у способі інгібування або зниження регулювання аберантної активності серинової протеази у суб'єкта, який цього потребує.
2. Виділений злитий білок за п. 1, де поліпептид AAT містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 80 або мутантну петлю реакційного центра AAT, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 32.
3. Виділений злитий білок за п. 1, де модифікований поліпептид Fc людського IgG4 додатково містить мутацію в положенні T256, що відповідає залишку 38 SEQ ID NO: 60.
4. Виділений злитий білок за п. 1, де модифікований поліпептид Fc людського IgG4 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73.
5. Виділений злитий білок за п. 1 або 2, де серпіновий поліпептид і модифікований поліпептид Fc людського IgG4 функціонально зв'язані лінкерною ділянкою, де лінкерна ділянка містить пептидну послідовність.
6. Виділений злитий білок за п. 1, де злитий білок містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 79.
7. Спосіб інгібування або зниження аберантної експресії або активності серинової протеази у суб'єкта, який цього потребує, при цьому спосіб включає введення злитого білка за п. 1.
8. Спосіб за п. 7, де суб'єкт, який цього потребує, має запальне захворювання або порушення, або ризик розвитку інфекції.
9. Спосіб за п. 8, де суб'єкт є людиною.
10. Спосіб за п. 8, де запальне захворювання або порушення вибрано з наступного: дефіцит альфа-1-антитрипсину, емфізема, хронічна обструктивна хвороба легень (ХОХЛ), гострий респіраторний дистрес-синдром, алергічна астма, кістозний фіброз, рак легень, ішемічно-реперфузійне пошкодження, ішемічно-реперфузійне пошкодження після пересадки серця, інфаркт міокарда, ревматоїдний артрит, септичний артрит, псоріатичний артрит, анкілозуючий спондиліт, хвороба Крона, псоріаз, діабет I і/або II типу, пневмонія, сепсис, реакція "трансплантат проти хазяїна", загоснення рани, системний червоний вовчак і розсіяний склероз.
11. Спосіб за п. 8, де інфекція вибрана з бактеріальних інфекцій, грибкових інфекцій або вірусних інфекцій.

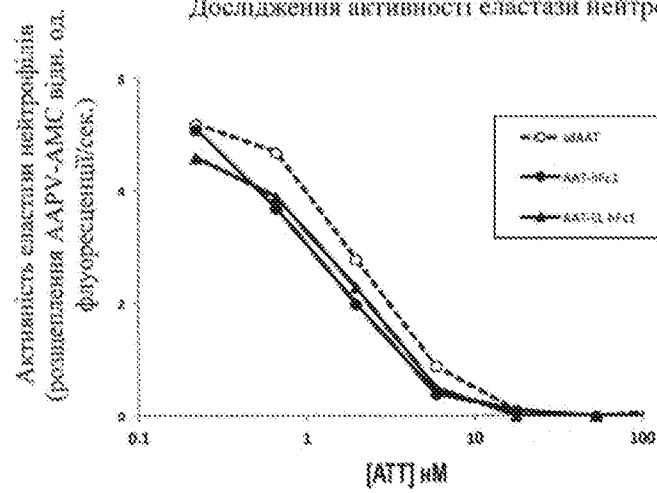


Фіг. 1А

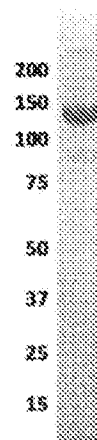


Фіг. 1В

Дослідження активності еластази нейтрофілів

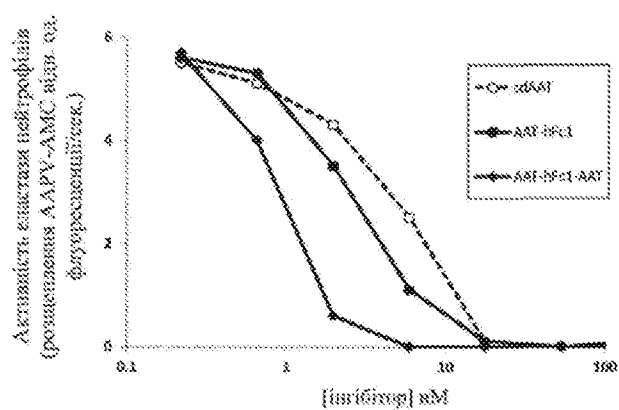


Фиг. 1C



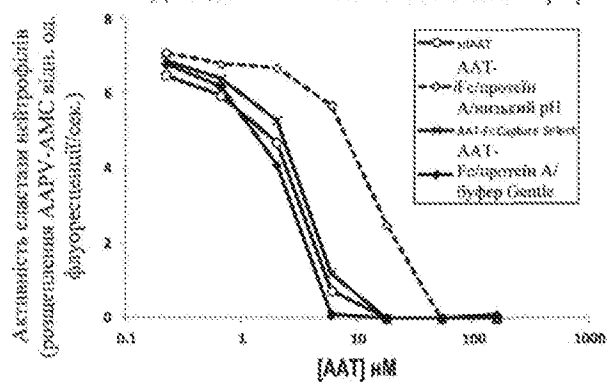
Фиг. 1D

Дослідження активності еластази нейтрофілів



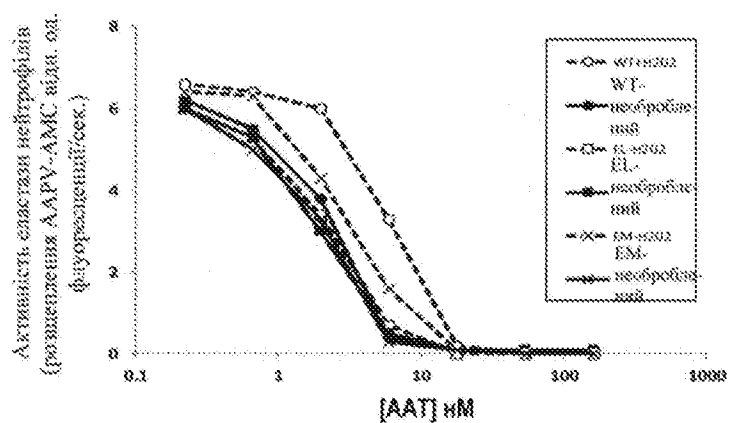
Фіг. 1Е

Дослідження активності еластази нейтрофілів

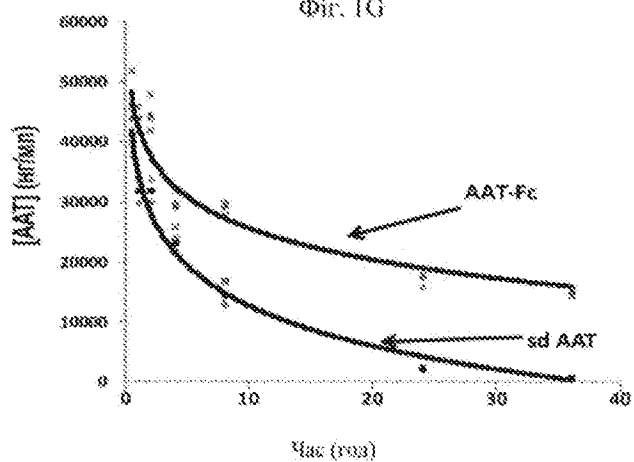


Фіг. 1F

Дослідження активності еластази нейтрофілів



Фиг. 1G



Фиг. 1H

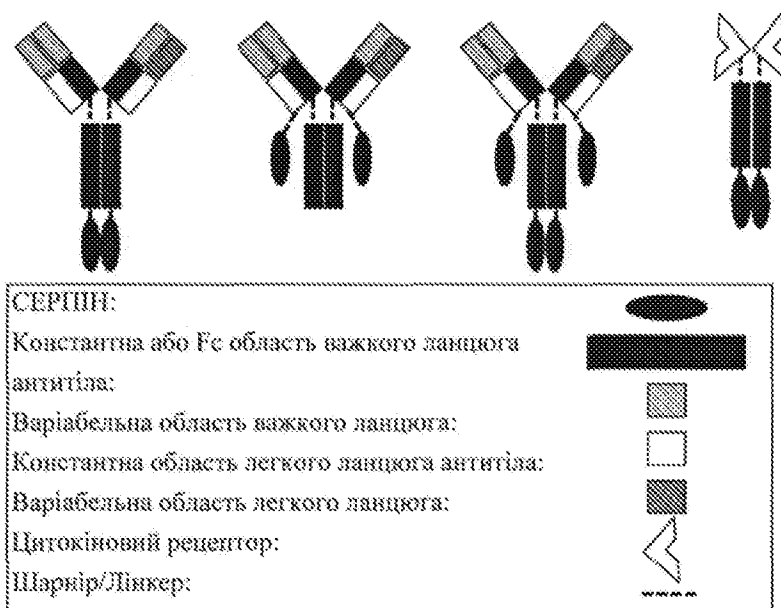


Fig. 2A

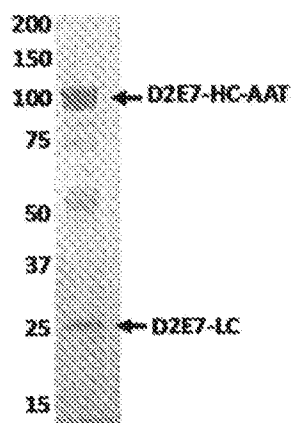
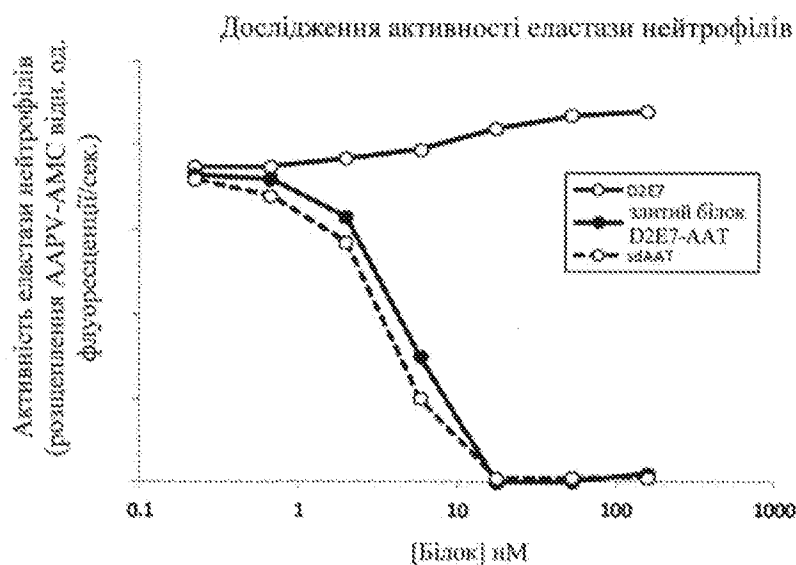
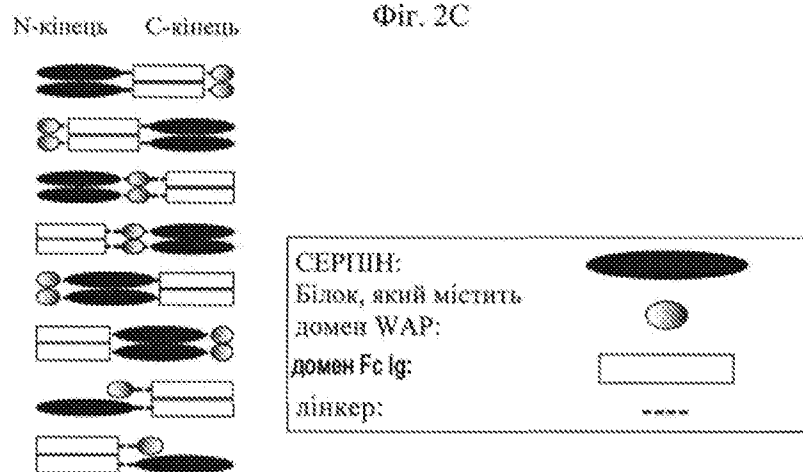


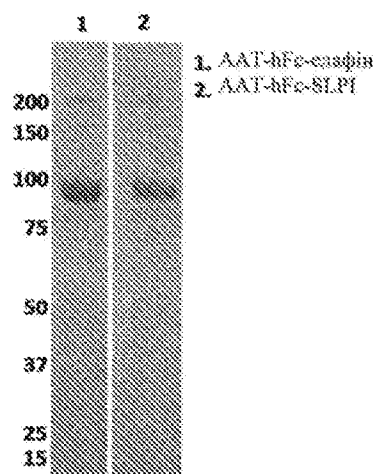
Fig. 2B



Фіг. 2С

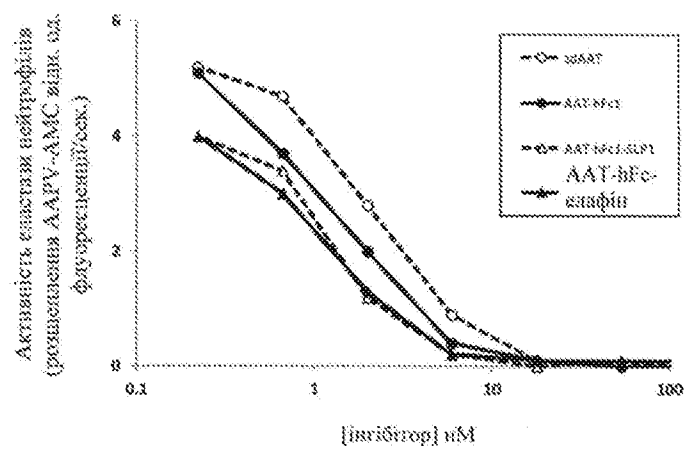


Фіг. 3А

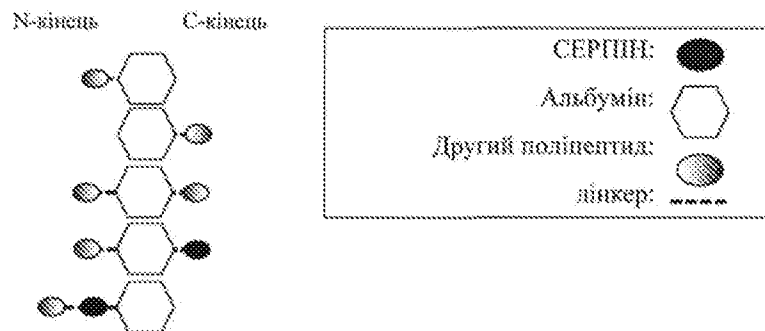


Фиг. 3В

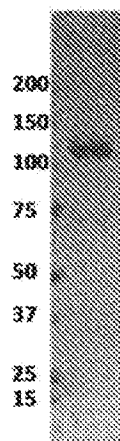
Дослідження активності еластази нейтрофілів



Фиг. 3С

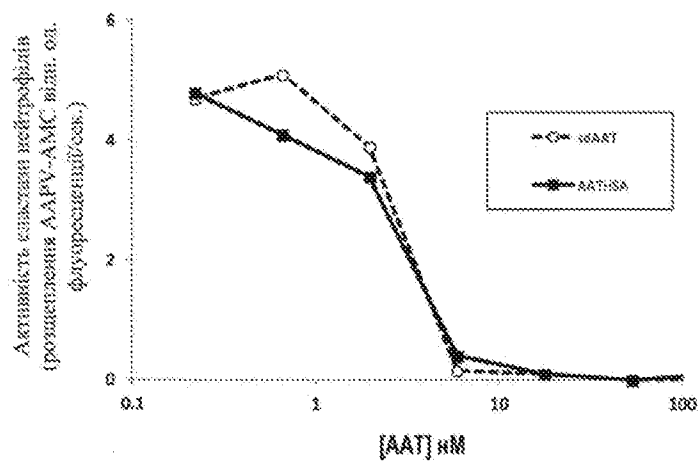


Фіг. 4А



Фіг. 4В

Дослідження активності еластази нейтрофілів



Фіг. 4С