



УКРАЇНА

(19) **UA**
(51) МПК(11) **128389**(13) **C2**

C12N 15/13 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)
C07K 16/36 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
C12N 1/15 (2006.01)
C12N 1/19 (2006.01)
C12N 1/21 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
C12P 21/08 (2006.01)

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

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2020 02066**
(22) Дата подання заявки: **27.09.2018**
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **04.07.2024**
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **2017-189647**
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **29.09.2017**
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **JP**
(41) Публікація відомостей про заявку: **10.07.2020, Бюл.№ 13**
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **03.07.2024, Бюл.№ 27**
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **PCT/JP2018/035832, 27.09.2018**

(72) Винахідник(и):
**Теранісі Юрі (JP),
Като Кадзукі (JP),
Коґа Хікару (JP),
Іґава Томоюкі (JP),
Ямаґуті Кадзукі (JP),
Соєда Тецухіро (JP)**
(73) Володілець (володільці):
**ЧУГАІ СЕЙЯКУ КАБУСІКІ КАЙСЯ,
5-1, Ukima 5-chome, Kita-ku, Tokyo 1158543,
Japan (JP)**
(74) Представник:
**Войтенко Олександр Петрович, реєстр.
№23**
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
**WO 2012067176 A1, 24.05.2012
WO 2013065708 A1, 10.05.2013**

(54) МУЛЬТИСПЕЦИФІЧНА АНТИГЕНЗВ'ЯЗУВАЛЬНА МОЛЕКУЛА, ЯКА МАЄ АКТИВНІСТЬ ЗАМІЩУВАТИ КОФАКТОРНУ ФУНКЦІЮ ФАКТОРА КОАГУЛЯЦІЇ КРОВІ VIII (FVIII), ТА ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ СКЛАД, ЯКИЙ МІСТИТЬ ЗГАДАНУ МОЛЕКУЛУ ЯК АКТИВНИЙ ІНГРЕДІЄНТ

(57) Реферат:

Винахід стосується біспецифічного антитіла, чия активність пригнічення активації FIX не є підвищеною і чия активність заміщування кофакторної функції FVIII є підвищеною.

UA 128389 C2

Галузь техніки

Цей винахід стосується мультиспецифічних антигензв'язувальних молекул, які мають активність заміщувати кофакторну функцію фактора коагуляції крові VIII (FVIII), та фармацевтичних складів з ними. Винахід також стосується антигензв'язувальних молекул, у яких регулюється асоціація між важким ланцюгом та легким ланцюгом, способів виробництва антигензв'язувальної молекули, у якій регулюється асоціація між важким ланцюгом та легким ланцюгом, та способів регуляції асоціації між важким ланцюгом та легким ланцюгом антигензв'язувальної молекули.

Попередній рівень техніки

Гемофілія А – це порушення гемостазу, спричинене природженим зниженням або дефіцитом функції фактора коагуляції крові VIII (FVIII). Пацієнтам з гемофілією А фармацевтичний склад з FVIII зазвичай вводять для лікування кровотечі за потреби (лікування за потреби). В останні роки фармацевтичні склади з FVIII також вводять профілактично для попередження випадків кровотечі (превентивне введення; непатентні документи 1 та 2). Період напіврозпаду фармацевтичних складів з FVIII у крові становить приблизно від 12 до 16 годин. Тому, для безперервного попередження фармацевтичні склади з FVIII вводять пацієнтам тричі на тиждень (непатентні документи 3 та 4). При лікуванні за потреби фармацевтичні склади з FVIII також додатково вводяться, коли це потрібно, з регулярними інтервалами для запобігання рецидиву кровотечі. Крім того, введення фармацевтичних складів з FVIII виконується внутрішньовенно. Тому, існує велика потреба у фармацевтичних агентах з меншими складнощами порівняно з фармацевтичними складами з FVIII.

Іноді у пацієнтів з гемофілією розвиваються антитіла проти FVIII (інгібітори). Такі інгібітори протидіють ефектам фармацевтичних складів з FVIII. Для лікування кровотечі у пацієнтів, у яких утворилися інгібітори (пацієнтів з інгібіторами), вводяться фармацевтичні склади обхідної дії. Їх механізми дії не залежать від функції FVIII, тобто від функції каталізувати активацію фактора коагуляції крові X (FX) активованим фактором коагуляції крові IX (FIXa). Тому, у деяких випадках, фармацевтичні склади обхідної дії не можуть достатньо ефективно зупинити кровотечу. Отже, існує велика потреба у терапевтичних агентах, на які не впливає присутність інгібіторів та які здатні функціонально заміщувати FVIII.

Як засіб розв'язання цих проблем були описані біспецифічні антитіла, які заміщують функцію FVIII, та їх застосування. (Патентні документи 1, 2, 3 та 4). Біспецифічні антитіла проти FIXa та FX здатні заміщувати функцію FVIII внаслідок розташування цих двох факторів дуже близько один до одного, внаслідок чого спостерігається активність заміщувати кофакторну функцію FVIII (непатентний документ 5). Повідомлялося, що активність заміщувати кофакторну функцію FVIII антитіл можна покращити шляхом оптимізації афінності та спрямованості на FIXa та FX (непатентний документ 6). Крім того, відомо, що на активність заміщувати кофакторну функцію FVIII антитіл впливає ізотип IgG, характер дисульфідного зв'язку, амінокислотна послідовність шарнірної ділянки та присутність або відсутність цукрових ланцюгів у Fc-ділянці (непатентний документ 7). Повідомлялося, що ACE910 (еміцизумаб), який має високу активність заміщувати кофакторну функцію FVIII та який є одним з цих антитіл, демонструє гемостатичні ефекти на мавпячих моделях з гемофілією (непатентні документи 8 та 9). Крім того, у клінічних випробуваннях на здорових суб'єктах було підтверджено, що ACE910 (еміцизумаб) досягає відмінної фармакокінетики (тривалий період напіврозпаду), та він добре переноситься (непатентний документ 10), та у клінічних випробуваннях за участю пацієнтів з гемофілією А з інгібіторами або без них внаслідок введення ACE910 (еміцизумабу) частота кровотечі помітно знижувалася порівняно з періодом до введення ACE910 (еміцизумабу) (непатентний документ 11).

Як описано вище, у клінічних випробуваннях ACE910 (еміцизумабу) спостерігалися ефекти зниження частоти кровотечі. Однак, в аналізах тромбіноутворення *in vitro* із застосуванням плазми з дефіцитом FVIII ефекти покращення дії ACE910 (еміцизумабу) на максимальне значення тромбіноутворення (висота піка) були нижчими порівняно з кількістю, утвореною у присутності нормального рівня FVIII, який становить 100 одиниць/декалітр (непатентний документ 8). Тому, бажаним є подальше підвищення ефективності ліків. Крім того, враховуючи зручність для пацієнтів з гемофілією А, існує потреба у біспецифічних антитілах, які мають активність заміщувати кофакторну функцію FVIII та які здатні далі знижувати дозу введення внаслідок покращення специфічної активності, та їм подібних.

Зазвичай, трапляються випадки, коли фармацевтичний препарат на основі антитіла діє як антиген, індукуючи виробництво анти-антитіла (ADA) (непатентний документ 12). Оскільки безперервне введення ACE910 (еміцизумабу) стає складним для пацієнтів з гемофілією з виникненням ADA (антиідіотипічних антитіл до ACE910 (еміцизумабу)), існує потреба у

біспецифічних антитілах, які мають активність заміщувати кофакторну функцію FVIII та які можна вводити таким пацієнтам.

ACE910 (еміцизумаб) – це біспецифічне антитіло, оптимізоване з точки зору багатьох аспектів шляхом введення багатьох амінокислотних замін в антитіло-прототип hBS1. Антитіло-прототип hBS1 отримали шляхом гуманізації біспецифічного антитіла, яке набули внаслідок імунізації тварини та яке розпізнає FIX та/або FIXa та FX. ACE910 (еміцизумаб) має високу активність заміщувати кофакторну функцію FVIII (непатентний документ 6 та патентний документ 4). Однак, для посилення ефективності ліків та покращення специфічної активності необхідне біспецифічне антитіло, яке заміщує функцію FVIII, при цьому необхідно, щоб таке антитіло мало вищу максимальну активність (максимальну активність заміщувати кофакторну функцію FVIII) порівняно з ACE910 (еміцизумабом) та було б здатне демонструвати активність заміщувати кофакторну функцію FVIII при концентраціях, нижчих ніж концентрація ACE910 (еміцизумабу). Однак, на цей час, не було жодних повідомлень щодо біспецифічних антитіл, які мають помітно високу активність заміщувати кофакторну функцію FVIII порівняно з ACE910 (еміцизумабом) з точки зору концентрації та максимальної активності (патентні документи 4 та 5).

Попередньо про декілька методів повідомлялося як про методи отримання біспецифічних антитіл типу IgG, які мають константну ділянку людини (антитіла типу IgG, які мають константну ділянку людини, яка має специфічність зв'язування з антигеном А на одному плечі та специфічність зв'язування з антигеном В на іншому плечі). Зазвичай біспецифічні антитіла типу IgG складаються з двох типів Н-ланцюгів (а саме: Н-ланцюга для антигену А та Н-ланцюга для антигену В) та з двох типів L-ланцюгів (а саме: L-ланцюга для антигену А та L-ланцюга для антигену В). Коли експресуються такі біспецифічні антитіла типу IgG, можливі 10 типів комбінацій, такі як комбінації H2L2, оскільки експресуються два типи Н-ланцюгів та два типи L-ланцюгів. Серед них є один тип комбінації, яка має бажану специфічність зв'язування (IgG, який має специфічність зв'язування з антигеном А на одному плечі та специфічність зв'язування з антигеном В на іншому плечі). Отже, для того, щоб набути бажане біспецифічне антитіло, необхідно очистити один тип антитіла, що представляє інтерес, від решти з числа десяти типів антитіл, що є надзвичайно низьким за ефективністю та надзвичайно важким.

Повідомлялося про способи розв'язання цієї проблеми, які включають переважно вивільнення IgG, який має гетерологічну комбінацію Н-ланцюга для антигену А та Н-ланцюга для антигену В, шляхом заміни амінокислот у ділянці CH3 Н-ланцюга IgG (патентні документи 6, 7, 8 та 9 та непатентні документи 13 та 14). Серед цих способів повідомлялося про способи, у яких використовуються фізичні перешкоди у формі "виступу" та "западини", та способи, у яких використовується відштовхування електричних зарядів.

Також повідомлялося про спосіб ефективного отримання бажаної молекули, де використовується спільний L-ланцюг, у якому L-ланцюг для антигену А та L-ланцюг для антигену В присутні на одній і тій же амінокислотній послідовності (патентні документи 10 та 11). Однак, оскільки застосування спільного L-ланцюга може суттєво знизити афінність до антигену, то цей спосіб необов'язково є оптимальним. Отже, для того, щоб біспецифічне антитіло зв'язувалося з двома антигенами з високою афінністю, переважно, щоб асоціювалися лише L-ланцюг та Н-ланцюг для антигену А та асоціювалися лише L-ланцюг та Н-ланцюг для антигену В. Крім того, повідомлялося про спосіб, який дозволяє, щоб Н-ланцюги та L-ланцюги для кожного антигену асоціювалися незалежно від варіабельних ділянок, при цьому спосіб включає заміну амінокислот у доменах CH1 та CL, які є константними ділянками, замість заміни амінокислот у варіабельних ділянках (патентні документи 7, 12 та 13). Однак, у цьому способі залишається багато чого для вдосконалення з точки зору ефективності виробництва біспецифічного антитіла, яке представляє інтерес.

Перелік цитувань

Патентні документи

Патентний документ 1 - WO 2005/035754

Патентний документ 2 - WO 2005/035756

Патентний документ 3 - WO 2006/109592

Патентний документ 4 - WO 2012/067176

Патентний документ 5 - WO 2017/110980

Патентний документ 6 - WO 1996/027011

Патентний документ 7 - WO 2006/106905

Патентний документ 8 - WO 2009/089004

Патентний документ 9 - WO 2010/129304

Патентний документ 10 - WO 98/050431

Патентний документ 11 - WO 2006/109592

Патентний документ 12 - WO 2007/147901

Патентний документ 13 - WO 2013/065708

Непатентні документи

5 Непатентний документ 1 - Blood 58, 1-13 (1981)

Непатентний документ 2 - Nature 312, 330-337 (1984)

Непатентний документ 3 - Nature 312, 337-342 (1984)

Непатентний документ 4 - Biochim.Biophys.Acta 871, 268-278 (1986)

Непатентний документ 5 - Nat Med. 2012 Oct;18 (10):1570-4.

10 Непатентний документ 6 - PLoS One. 2013;8 (2):e57479.

Непатентний документ 7 - MAbs. 2015;7 (1):120-8.

Непатентний документ 8 - J Thromb Haemost. 2014 Feb;12 (2):206-213.

Непатентний документ 9 - Blood. 2014 Nov 13;124 (20):3165-71.

Непатентний документ 10 - Blood. 2016, Vol.127, 13

15 Непатентний документ 11 - New Eng J Med 2016 , 374;21, 2044-2053

Непатентний документ 12 - Self/Nonself Volume 1, 2010 - Issue 4

Непатентний документ 13 - Protein Engineering. 1996, Vol.9:617-621

Непатентний документ 14 - Nature Biotechnology. 1998, Vol.16:677-681

Суть винаходу

20 Задачі, що вирішуються винаходом

Цей винахід було здійснено з прийняттям до уваги вищезгаданих обставин. Завдання цього винаходу – отримати мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу, яка має активність заміщувати кофакторну функцію фактора коагуляції крові VIII (FVIII), та фармацевтичні складки, які містять таку молекулу як активний інгредієнт.

25 Крім того, цей винахід було здійснено з прийняттям до уваги вищезгаданих обставин. Інше завдання цього винаходу – отримати антитіла, у яких регулюється асоціація між важким ланцюгом та легким ланцюгом, способи отримання антитіла, у якому регулюється асоціація між важким ланцюгом та легким ланцюгом, та способи регулювання асоціації між важким ланцюгом та легким ланцюгом антитіла.

30 Засоби вирішення задач

Для отримання біспецифічних антитіл з високою специфічною активністю та максимальною активністю заміщувати кофакторну функцію FVIII автори цього винаходу отримали з бібліотеки антитіл людини нові легкі ланцюги, які мають послідовності, відмінні від послідовностей ACE910 (еміцизумабу), які мають активність заміщувати кофакторну функцію FVIII, та отримали

35 біспецифічні антитіла, у яких амінокислотні заміни були зроблені на різних ділянках легких ланцюгів та важких ланцюгів ACE910 (еміцизумабу). Потім вони визначили, що активність пригнічувати активацію фактора коагуляції крові IX (FIX) зростає з підвищенням активності заміщувати кофакторну функцію FVIII.

Внаслідок цілеспрямованого дослідження авторам цього винаходу вдалося визначити

40 біспецифічні антитіла, активність яких пригнічувати активацію FIX не підвищується та активність яких заміщувати кофакторну функцію FVIII підвищується.

Крім того, автори цього винаходу вибрали константну ділянку важкого ланцюга CH1 та константну ділянку легкого ланцюга (CL) як ділянки важкого ланцюга та легкого ланцюга, які слід піддати регуляції стосовно асоціації, та здійснили цілеспрямовані дослідження щодо регуляції асоціації між CH1 та CL. Як наслідок, авторам цього винаходу вдалося визначити, що

45 небажану асоціацію CH1 та CL можна пригнітити шляхом заміни специфічних амінокислотних залишків, присутніх на границі контакту між CH1 та CL, амінокислотними залишками, які електростатично відштовхують один одного, та що гетерогенні молекули утворюються ефективніше, ніж при застосуванні вищеописаних модифікацій, при яких утворюють тільки

50 виступ та западину у CH3.

Цей винахід було здійснено на підставі таких результатів, та ним конкретно пропонується наступне від [1] до [25], що наведено нижче:

[1] мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка має функцію заміщувати функцію фактора коагуляції крові VIII, при цьому молекула включає першу антигензв'язувальну ділянку,

55 яка зв'язується з фактором коагуляції крові IX та/або активованим фактором коагуляції крові IX, та другу антигензв'язувальну ділянку, яка зв'язується з фактором коагуляції крові X, де перша антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга і варіабельний домен легкого ланцюга,

де варіабельний домен важкого ланцюга (Q499) включає HVR-H1, що включає

60 амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 1, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність

за SEQ ID NO: 2, та HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 3, та варіабельний домен легкого ланцюга (QNK131) включає HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 162, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 163, та HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 164; та

5 де друга антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга та варіабельний домен легкого ланцюга,

де варіабельний домен важкого ланцюга (J327) включає HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 4, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 5, та HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 6, та

10 варіабельний домен легкого ланцюга (JNL095) включає HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 165, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 166, та HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 167;

де один або більше амінокислотних залишків замінені іншими амінокислотами, видалені або вставлені у щонайменше одну з HVR.

15 [2] мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула за [1], де:

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 31, 34, 97, 98, 100, 100a, 100b і 100e згідно з нумерацією за Кабат, замінений іншою амінокислотою у варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки або видалений з нього,

20 щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 26, 27, 30, 31, 32, 53, 55, 92, 93, 95 і 96 згідно з нумерацією за Кабат, замінений іншою амінокислотою у варіабельному домені легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки або вставлений в нього,

25 щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 31, 51, 56, 57, 59, 61, 62, 65 і 102 згідно з нумерацією за Кабат, замінений іншою амінокислотою у варіабельному домені важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки,

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 50, 92, 94, 95, 95a і 96 згідно з нумерацією за Кабат, замінений у варіабельному домені легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки або видалений в нього;

[3] мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула за [1] або [2], де:

у варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки амінокислотний залишок на позиції 31 являє собою гістидин, амінокислотний залишок на позиції 34 являє собою аланін, амінокислотний залишок на позиції 97 являє собою аспарагінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 98 являє собою серин, амінокислотний залишок на позиції 100 являє собою аспарагінову кислоту або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 100a являє собою аспарагінову кислоту або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 100b являє собою аланін або гістидин, або амінокислотний залишок на позиції 100e являє собою гістидин або ізолейцин, при цьому вказана позиція відповідає нумерації за Кабат;

40 у варіабельному домені легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки амінокислотний залишок на позиції 26 являє собою треонін, амінокислотний залишок на позиції 27 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 30 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 31 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 32 являє собою аспарагінову кислоту або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 53 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 55 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 92 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 93 являє собою серин або аспарагінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 95 являє собою пролін, або амінокислотний залишок на позиції 96 являє собою гліцин, при цьому вказана позиція відповідає нумерації за Кабат;

50 у варіабельному домені важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки амінокислотний залишок на позиції 31 являє собою аспарагін, глутамін або гістидин, амінокислотний залишок на позиції 51 являє собою серин, амінокислотний залишок на позиції 56 являє собою треонін або аргінін, амінокислотний залишок на позиції 57 являє собою валін, амінокислотний залишок на позиції 59 являє собою серин, амінокислотний залишок на позиції 61 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 62 являє собою лізин, амінокислотний залишок на позиції 65 являє собою аспарагін або глутамін, або амінокислотний залишок на позиції 102 являє собою валін, при цьому вказана позиція відповідає нумерації за Кабат; і

60 у варіабельному домені легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки

амінокислотний залишок на позиції 24 являє собою треонін, амінокислотний залишок на позиції 26 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 27 являє собою глутамін, амінокислотний залишок на позиції 29 являє собою серин, амінокислотний залишок на позиції 30 являє собою глутамін, серин або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 31 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 32 являє собою глутамін або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 50 являє собою глутамін, амінокислотний залишок на позиції 92 являє собою аланін, амінокислотний залишок на позиції 94 являє собою аспарагінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 95 являє собою аспарагінову кислоту або аланін, амінокислотний залишок на позиції 95а являє собою тирозин або видалений, або амінокислотний залишок на позиції 96 являє собою треонін, при цьому вказана позиція відповідає нумерації за Кабат;

[4] мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула за будь-яким з від [1] до [3], де перша антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга і варіабельний домен легкого ланцюга, де варіабельний домен важкого ланцюга включає:

1) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 168, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 169, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 170 (QH01);

2) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 171, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 172, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 173 (QH02);

3) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 174, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 175, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 176 (QH03);

4) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 177, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 178, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 179 (QH04);

5) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 180, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 181, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 182 (QH06); або

6) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 183, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 184, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 185 (QH07); і

варіабельний домен легкого ланцюга включає:

1) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 186, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 187, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 188 (QL21);

2) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 189, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 190, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 191 (QL22);

3) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 192, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 193, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 194 (QL23);

4) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 195, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 196, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 197 (QL24);

5) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 198, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 199, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 200 (QL25);

6) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 201, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 202, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 203 (QL26);

7) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 204, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 205, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 206 (QL28);

8) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 207, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 208, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 209 (QL29);

9) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 210, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 211, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 212 (QL30);

послідовність за SEQ ID NO: 269 (JL05);

6) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 270, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 271, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 272 (JL06);

5 7) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 273, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 274, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 275 (JL07);

8) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 276, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 277, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 278 (JL08);

10 9) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 279, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 280, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 281 (JL09);

15 10) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 282, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 283, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 284 (JL10); або

11) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 285, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 286, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 287 (JL11);

20 [5] мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула за [1], де перша антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга за SEQ ID NO: 45 (Q499) і варіабельний домен легкого ланцюга за SEQ ID NO: 13 (QNK131), і друга антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга за SEQ ID NO: 46 (J327) і варіабельний домен легкого ланцюга за SEQ ID NO: 31 (JNL095), де один або більше амінокислотних залишків замінені іншими амінокислотами, видалені або вставлені у щонайменше один з варіабельних доменів важкого ланцюга або варіабельних доменів легкого ланцюга;

[6] мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула за [5], де:

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 31, 34, 39, 97, 98, 100, 100a, 100b і 100e згідно з нумерацією за Кабат, замінений іншою амінокислотою у варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки або видалений з нього,

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 26, 27, 30, 31, 32, 38, 45, 53, 55, 60, 70, 76, 79, 80, 83, 85, 92, 93, 95 і 96 згідно з нумерацією за Кабат, замінений іншою амінокислотою у варіабельному домені легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки або вставлений в нього,

35 щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 28, 31, 39, 51, 56, 57, 59, 61, 62, 65, 67, 73, 82b і 102 згідно з нумерацією за Кабат, замінений іншою амінокислотою у варіабельному домені важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки, і

40 щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 3, 8, 15, 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 38, 48, 49, 50, 79, 92, 94, 95, 95a і 96 згідно з нумерацією за Кабат, замінений іншою амінокислотою у варіабельному домені легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки або видалений з нього;

[7] мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула за [5] або [6], де:

45 у варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки амінокислотний залишок на позиції 31 являє собою гістидин, амінокислотний залишок на позиції 34 являє собою аланін, амінокислотний залишок на позиції 39 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 97 являє собою аспарагінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 98 являє собою серин, амінокислотний залишок на позиції 100 являє собою аспарагінову кислоту або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 100a являє собою аспарагінову кислоту або видалений, амінокислотний залишок на позиції 100b являє собою аланін або гістидин, або амінокислотний залишок на позиції 100e являє собою гістидин або ізолейцин, при цьому вказана позиція відповідає нумерації за Кабат,

у варіабельному домені легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки амінокислотний залишок на позиції 26 являє собою треонін, амінокислотний залишок на позиції 27 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 30 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 31 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 32 являє собою аспарагінову кислоту або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 38 являє собою лізин, амінокислотний залишок на позиції 45 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 53 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на

позиції 55 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 60 являє собою аспарагінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 70 являє собою аспарагінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 76 являє собою аспарагін, амінокислотний залишок на позиції 79 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 80 являє собою пролін або аланін, амінокислотний залишок на позиції 83 являє собою метіонін або аланін, амінокислотний залишок на позиції 85 являє собою треонін, амінокислотний залишок на позиції 92 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 93 являє собою серин або аспарагінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 95 являє собою пролін, або амінокислотний залишок на позиції 96 являє собою гліцин, при цьому вказана позиція відповідає нумерації за Кабат,

у варіабельному домені важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки амінокислотний залишок на позиції 28 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 31 являє собою аспарагін, глутамін або гістидин, амінокислотний залишок на позиції 39 являє собою лізин, амінокислотний залишок на позиції 51 являє собою серин, амінокислотний залишок на позиції 56 являє собою треонін або аргінін, амінокислотний залишок на позиції 57 являє собою валін, амінокислотний залишок на позиції 59 являє собою серин, амінокислотний залишок на позиції 61 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 62 являє собою лізин, амінокислотний залишок на позиції 65 являє собою аспарагін або глутамін, амінокислотний залишок на позиції 67 являє собою лейцин, амінокислотний залишок на позиції 73 являє собою ізолейцин, амінокислотний залишок на позиції 82b являє собою глутамінову кислоту, або амінокислотний залишок на позиції 102 являє собою валін, при цьому вказана позиція відповідає нумерації за Кабат, і

у варіабельному домені легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки амінокислотний залишок на позиції 3 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 8 являє собою пролін, амінокислотний залишок на позиції 15 являє собою лейцин, амінокислотний залишок на позиції 24 являє собою треонін, амінокислотний залишок на позиції 26 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 27 являє собою глутамін, амінокислотний залишок на позиції 29 являє собою серин, амінокислотний залишок на позиції 30 являє собою глутамін, серин або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 31 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 32 являє собою глутамін або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 38 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 48 являє собою ізолейцин, амінокислотний залишок на позиції 49 являє собою тирозин, амінокислотний залишок на позиції 50 являє собою глутамін, амінокислотний залишок на позиції 79 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 92 являє собою аланін, амінокислотний залишок на позиції 94 являє собою аспарагінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 95 являє собою аспарагінову кислоту або аланін, амінокислотний залишок на позиції 95a являє собою тирозин або видалений, або амінокислотний залишок на позиції 96 являє собою треонін, при цьому вказана позиція відповідає нумерації за Кабат;

[8] мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула за будь-яким з від [1] до [7], де перша антигензв'язувальна ділянка включає:

варіабельний домен важкого ланцюга (QH), що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 або SEQ ID NO: 60, і

варіабельний домен легкого ланцюга (QL), що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71 або SEQ ID NO: 72; і

друга антигензв'язувальна ділянка включає:

варіабельний домен важкого ланцюга (JH), що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82 або SEQ ID NO: 83, і

варіабельний домен легкого ланцюга (JL), що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 93 або SEQ ID NO: 94;

[9] мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула за будь-яким з від [1] до [8], де перша антигензв'язувальна ділянка включає константні ділянки, що включають амінокислотні послідовності, представлені в (1) або (2) нижче, і друга антигензв'язувальна ділянка включає константні ділянки, що включають амінокислотні послідовності, представлені в (1) або (2) нижче, які є відмінними від константних ділянок, включених в першу антигензв'язувальну ділянку:

(1) SEQ ID NO: 119 як константна ділянка важкого ланцюга і SEQ ID NO: 100 як константна

амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного:

(а) амінокислотний залишок в константній ділянці важкого ланцюга (CH1), який знаходиться на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок в константній ділянці легкого ланцюга (CL), який знаходиться на позиції 180 згідно з нумерацією за Кабат,

5 (b) амінокислотний залишок в CH1, який знаходиться на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок в CL, який знаходиться на позиції 131 згідно з нумерацією за Кабат,

(с) амінокислотні залишки в CH1, які знаходяться на позиціях 147 і 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотні залишки в CL, які знаходяться на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією за Кабат;

10 [13] антигензв'язувальна молекула за [12], де додатково два або більше амінокислотних залишків, що утворюють границю контакту між варіабельною ділянкою важкого ланцюга і варіабельною ділянкою легкого ланцюга, являють собою амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного;

15 [14] антигензв'язувальна молекула за [13], де амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного, являють собою один або два набори амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається з наборів амінокислотних залишків, наведених в (а) або (b) нижче:

(а) амінокислотний залишок у варіабельній ділянці важкого ланцюга, який знаходиться на позиції 39 згідно з нумерацією за Кабат, і амінокислотний залишок у варіабельній ділянці легкого ланцюга, який знаходиться на позиції 38 згідно з нумерацією за Кабат,

20 (b) амінокислотний залишок у варіабельній ділянці важкого ланцюга, який знаходиться на позиції 45 згідно з нумерацією за Кабат, і амінокислотний залишок у варіабельній ділянці легкого ланцюга, який знаходиться на позиції 44 згідно з нумерацією за Кабат;

25 [15] антигензв'язувальна молекула за будь-яким з від [12] до [14], де амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного, вибрані з амінокислотних залишків, включених в набір (X) або (Y) нижче:

(X) глутамінова кислота (E), аспарагінова кислота (D),

(Y) лізин (K), аргінін (R), гістидин (H);

30 [16] антигензв'язувальна молекула за будь-яким з від [12] до [15], яка являє собою біспецифічне антитіло;

[17] спосіб отримання антигензв'язувальної молекули, в якій асоціація між важким ланцюгом і легким ланцюгом є регульованою, при цьому спосіб включає етапи від (1) до (3) нижче:

35 (1) здійснення модифікування нуклеїнової кислоти (нуклеїнових кислот), що кодує(ють) константну ділянку важкого ланцюга (CH1) і константну ділянку легкого ланцюга (CL), так, що один набір або два або більше наборів амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається з наборів амінокислотних залишків, наведених у від (а) до (с) нижче, електростатично відштовхують один одного:

(а) амінокислотний залишок в CH1, який знаходиться на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок в CL, який знаходиться на позиції 180 згідно з нумерацією за Кабат,

40 (b) амінокислотний залишок в CH1, який знаходиться на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок в CL, який знаходиться на позиції 131 згідно з нумерацією за Кабат,

(с) амінокислотні залишки в CH1, які знаходяться на позиціях 147 і 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотні залишки в CL, які знаходяться на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією за Кабат;

45 (2) введення модифікованої(их) нуклеїнової кислоти (нуклеїнових кислот) в клітину-хазяїна і культивування клітини-хазяїна таким чином, щоб експресувалася(ися) нуклеїнова кислота (нуклеїнові кислоти);

(3) збирання антигензв'язувальної молекули з культури клітини-хазяїна;

50 [18] Спосіб регулювання асоціації між важким ланцюгом і легким ланцюгом в антигензв'язувальній молекулі, при цьому спосіб передбачає здійснення модифікування нуклеїнової кислоти так, що один набір або два або більше наборів амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається з наборів амінокислотних залишків, наведених у від (а) до (с) нижче, являють собою амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного:

(а) амінокислотний залишок в CH1, який знаходиться на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок в CL, який знаходиться на позиції 180 згідно з нумерацією за Кабат,

55 (b) амінокислотний залишок в CH1, який знаходиться на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок в CL, який знаходиться на позиції 131 згідно з нумерацією за Кабат,

(с) амінокислотні залишки в CH1, які знаходяться на позиціях 147 і 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотні залишки в CL, які знаходяться на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією за Кабат;

60

[19] Виділена нуклеїнова кислота, яка кодує мультиспецифічну антигенз'язувальну молекулу за будь-яким з від [1] до [9], мультиспецифічне антитіло за [10], біспецифічне антитіло за [10], [11] або [16] або антигенз'язувальну молекулу за будь-яким з від [12] до [15];

[20] клітина-хазяїн, яка містить нуклеїнову кислоту за [19];

5 [21] Спосіб отримання мультиспецифічної антигенз'язувальної молекули, мультиспецифічного антитіла, біспецифічного антитіла або антигенз'язувальної молекули, де спосіб передбачає культивування клітини-хазяїна за [20] так, щоб вироблялися мультиспецифічна антигенз'язувальна молекула, мультиспецифічне антитіло, біспецифічне антитіло або антигенз'язувальна молекула;

10 [22] фармацевтичний склад, який містить мультиспецифічну антигенз'язувальну молекулу за будь-яким з від [1] до [9], мультиспецифічне антитіло за [10], біспецифічне антитіло за [10], [11] або [16] або антигенз'язувальну молекулу за будь-яким з від [12] до [15] і фармацевтично прийнятний носій;

15 [23] фармацевтичний склад за [22], який призначений для застосування в профілактиці та/або лікуванні кровотечі, хвороби, яка супроводжує кровотечу, або хвороби, що спричиняється кровотечею;

[24] фармацевтичний склад за [23], де кровотеча, хвороба, яка супроводжує кровотечу, або хвороба, що спричиняється кровотечею, являє собою хворобу, яка розвивається та/або прогресує внаслідок зниження або дефіциту активності фактора згортання крові VIII та/або активованого фактора згортання крові VIII;

20 [25] фармацевтичний склад за [24], де хвороба, яка розвивається та/або прогресує внаслідок зниження або дефіциту активності фактора згортання крові VIII та/або активованого фактора згортання крові VIII, являє собою гемофілію А, хворобу з появою інгібітору проти фактора згортання крові VIII та/або активованого фактора згортання крові VIII, набуту гемофілію або хворобу Вілебранда.

25 До того ж, цим винаходом передбачається наступне:

[26] мультиспецифічна антигенз'язувальна молекула за будь-яким з від [1] до [9], мультиспецифічне антитіло за [10], біспецифічне антитіло за [10], [11] або [16] або антигенз'язувальна молекула за будь-яким з від [12] до [15], що призначені для застосування як ліків;

[27] мультиспецифічна антигенз'язувальна молекула за будь-яким з від [1] до [9], мультиспецифічне антитіло за [10] або біспецифічне антитіло за [10] або [11], що призначені для застосування в профілактиці та/або лікуванні кровотечі, хвороби, яка супроводжує кровотечу, або хвороби, що спричиняється кровотечею;

35 [28] мультиспецифічна антигенз'язувальна молекула за будь-яким з від [1] до [9], мультиспецифічне антитіло за [10] або біспецифічне антитіло за [10] або [11], що призначені для використання для заміщення кофакторної функції FVIII;

[29] застосування мультиспецифічної антигенз'язувальної молекули за будь-яким з від [1] до [9], мультиспецифічного антитіла за [10] або біспецифічного антитіла за [10] або [11] у виробництві ліків для лікування кровотечі, хвороби, яка супроводжує кровотечу, або хвороби, що спричиняється кровотечею;

40 [30] застосування мультиспецифічної антигенз'язувальної молекули за будь-яким з від [1] до [9], мультиспецифічного антитіла за [10] або біспецифічного антитіла за [10] або [11] у виробництві ліків для заміщення кофакторної функції FVIII;

45 [31] спосіб лікування індивідуума з кровотечею, хворобою, яка супроводжує кровотечу, або хворобою, що спричиняється кровотечею, при цьому спосіб передбачає введення індивідууму ефективної кількості мультиспецифічної антигенз'язувальної молекули за будь-яким з від [1] до [9], мультиспецифічного антитіла за [10] або біспецифічного антитіла за [10] або [11]; і

[32] спосіб заміщення кофакторної функції FVIII у індивідуума, при цьому спосіб передбачає етап введення індивідууму ефективної кількості мультиспецифічної антигенз'язувальної молекули за будь-яким з від [1] до [9], мультиспецифічного антитіла за [10] або біспецифічного антитіла за [10] або [11] для заміщення кофакторної функції FVIII.

50 До того ж, цим винаходом передбачається наступне:

55 [33] спосіб отримання антигенз'язувальної молекули за [17], який передбачає на етапі (1) етап здійснення модифікування нуклеїнової кислоти так, що амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного, є вибраними з амінокислотних залишків, включених в групу (X) або (Y) нижче:

(X) глутамінова кислота (E), аспарагінова кислота (D), та

(Y) лізин (K), аргінін (R), гістидин (H);

60 [34] спосіб отримання антигенз'язувальної молекули за [17] або [33], який додатково

передбачає на етапі (1) етап здійснення модифікування нуклеїнової кислоти так, що два або більше амінокислотних залишків, що утворюють границю контакту між варіабельною ділянкою важкого ланцюга і варіабельною ділянкою легкого ланцюга, являють собою амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного;

5 [35] спосіб отримання антигензв'язувальної молекули за [34], де амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного, являють собою будь-який один набір амінокислотних залишків, вибраний з групи, що складається з наборів амінокислотних залишків, наведених в (а) або (b) нижче:

10 (а) амінокислотний залишок у варіабельній ділянці важкого ланцюга, який знаходиться на позиції 39 згідно з нумерацією за Кабат, і амінокислотний залишок у варіабельній ділянці легкого ланцюга, який знаходиться на позиції 38 згідно з нумерацією за Кабат, та

(b) амінокислотний залишок у варіабельній ділянці важкого ланцюга, який знаходиться на позиції 45 згідно з нумерацією за Кабат, і амінокислотний залишок у варіабельній ділянці легкого ланцюга, який знаходиться на позиції 44 згідно з нумерацією за Кабат;

15 [36] спосіб отримання антигензв'язувальної молекули за [34] або [35], де амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного, вибрані з амінокислотних залишків, включених в набір (X) або (Y) нижче:

(X) глутамінова кислота (E), аспарагінова кислота (D), та

(Y) лізин (K), аргінін (R), гістидин (H);

20 [37] спосіб за [18], де амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного, вибрані з амінокислотних залишків, включених в набір (X) або (Y) нижче:

(X) глутамінова кислота (E), аспарагінова кислота (D), та

(Y) лізин (K), аргінін (R), гістидин (H);

25 [38] спосіб за [18] або [37], де додатково два або більше амінокислотних залишків, що утворюють границю контакту між варіабельною ділянкою важкого ланцюга і варіабельною ділянкою легкого ланцюга, являють собою амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного;

30 [39] спосіб за [38], де амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного, являють собою будь-який один набір амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається з наборів амінокислотних залишків, наведених в (а) або (b) нижче:

(а) амінокислотний залишок у варіабельній ділянці важкого ланцюга, який знаходиться на позиції 39 згідно з нумерацією за Кабат, і амінокислотний залишок у варіабельній ділянці легкого ланцюга, який знаходиться на позиції 38 згідно з нумерацією за Кабат,

35 (b) амінокислотний залишок у варіабельній ділянці важкого ланцюга, який знаходиться на позиції 45 згідно з нумерацією за Кабат, і амінокислотний залишок у варіабельній ділянці легкого ланцюга, який знаходиться на позиції 44 згідно з нумерацією за Кабат; і

[40] спосіб за [38] або [39], де амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного, вибрані з амінокислотних залишків, включених в набір (X) або (Y) нижче:

(X) глутамінова кислота (E), аспарагінова кислота (D), та

40 (Y) лізин (K), аргінін (R), гістидин (H).

До того ж, цим винаходом передбачається наступне:

[41] мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула за будь-яким з від [1] до [7], яка являє собою будь-яку з від (а) до (v) нижче:

45 (а) мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка включає варіабельний домен важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 56, варіабельний домен легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 61, варіабельний домен важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 73, і варіабельний домен легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 84 (QH01/QL21/JH01/JL01);

50 (b) мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка включає варіабельний домен важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 57, варіабельний домен легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 62, варіабельний домен важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 73, і варіабельний домен легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 84 (QH02/QL22/JH01/JL01);

55 (с) мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка включає варіабельний домен важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 58, варіабельний домен легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну

5

10

15

25

30

40

45

50

60

варіабельний домен важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 81, і варіабельний домен легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 92 (QH06/QL32/JH09/JL09);

5 (s) біспецифічне антитіло, яке включає варіабельний домен важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 60, варіабельний домен легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 69, варіабельний домен важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 82, і варіабельний домен легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 93 (QH06/QL30/JH10/JL10);

10 (t) біспецифічне антитіло, яке включає варіабельний домен важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 105, варіабельний домен легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 72, варіабельний домен важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 83, і варіабельний домен легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 94 (QH07/QL33/JH11/JL11);

15 (u) біспецифічне антитіло, яке зв'язується з епітопами, ідентичними як епітопу у факторі згортання крові IX і/або активованому факторі згортання крові IX, так і епітопу у факторі згортання крові X, які розпізнаються будь-яким з антитіл від (a) до (t);

20 (v) біспецифічне антитіло, яке конкурує за зв'язування як з епітопом у факторі згортання крові IX і/або активованому факторі згортання крові IX, так і з епітопом у факторі згортання крові X, які розпізнаються будь-яким з антитіл від (a) до (t).

Стислий опис ілюстративного матеріалу

Фіг. 1 демонструє реакційну здатність біспецифічних антитіл, що мають нові L-ланцюги, по відношенню до антиідіотипічного антитіла до ACE910 (еміцизумабу).

25 Фіг. 2 демонструє різні впливи, які може здійснювати активність пригнічувати активацію FIX на активацію FIX.

Фіг. 3 демонструє графіки, побудовані щодо активності пригнічувати активацію FIX в залежності від активності заміщувати кофакторну функцію FVIII, які отримані від модифікацій нових L-ланцюгів та модифікацій H-ланцюгів.

30 Фіг. 4-1 демонструє залежність від концентрації активності біспецифічних антитіл, що мають комбінацію модифікацій L-ланцюга та H-ланцюга, заміщувати кофакторну функцію FVIII.

Фіг. 4-2 демонструє залежність від концентрації активності біспецифічних антитіл, що мають комбінацію модифікацій H-ланцюга та L-ланцюга, заміщувати кофакторну функцію FVIII.

35 Фіг. 5 демонструє максимальне значення тромбіноутворення (пікові висоти) для біспецифічних антитіл, що мають комбінацію модифікацій H-ланцюга та L-ланцюга, в аналізах тромбіноутворення.

Фіг. 6 демонструє зв'язування отриманих біспецифічних антитіл з позаклітинним матриксом (ECM).

Фіг. 7 демонструє фармакокінетику отриманих біспецифічних антитіл.

40 Фіг. 8 демонструє типи скомбінованих незбіжних пар, які можуть експресуватися.

Фіг. 9-1 демонструє дані катіонообмінної хроматографії (CIEH) отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-2 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-3 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

45 Фіг. 9-4 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-5 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-6 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-7 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-8 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

50 Фіг. 9-9 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-10 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-11 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

55 Фіг. 9-12 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-13 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

60 Фіг. 9-14 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-15 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-16 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

5 Фіг. 9-17 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-18 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

10 Фіг. 9-19 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 9-20 демонструє дані катіонообмінної хроматографії отриманого біспецифічного антитіла.

Фіг. 10 демонструє результати вимірювання активності біспецифічних антитіл, що мають нові L-ланцюги, заміщувати кофакторну функцію FVIII.

15 Відомості, що підтверджують можливість здійснення винаходу

I. Визначення

"Акцепторна каркасна ділянка людини" для цілей цього опису винаходу – це каркасна ділянка, яка включає амінокислотну послідовність каркасної ділянки варіабельного домену легкого ланцюга (VL) або каркасну ділянку варіабельного домену важкого ланцюга (VH), які походять від каркасної ділянки імуноглобуліну людини або консенсусної каркасної ділянки людини, як визначається нижче. Акцепторна каркасна ділянка людини, "що походить від" каркасної ділянки імуноглобуліну людини або консенсусної каркасної ділянки людини, може включати таку ж саму їх амінокислотну послідовність, або вона може мати зміни в амінокислотній послідовності. У деяких варіантах здійснення кількість амінокислотних змін становить 10 або менше, 9 або менше, 8 або менше, 7 або менше, 6 або менше, 5 або менше, 4 або менше, 3 або менше або 2 або менше. У деяких варіантах здійснення акцепторна каркасна ділянка VL людини є ідентичною у послідовності до послідовності каркасної ділянки VL імуноглобуліну людини або до послідовності консенсусної каркасної ділянки людини.

"Афінність" означає силу сукупності нековалентних взаємодій між єдиною ділянкою зв'язування молекули (наприклад, антитіла) та її партнером по зв'язуванню (наприклад, антигеном). Якщо інше не вказано, як застосовується у цьому описі, "афінність зв'язування" означає притаманну афінність зв'язування, яка відображає взаємодію 1:1 між членами пари зв'язування (наприклад, антитілом та антигеном). Афінність молекули X до її партнера Y можна взагалі представити як константу дисоціації (Kd). Афінність можна вимірювати звичайними відомими у галузі способами, які включають описані у цьому описі способи. Специфічні ілюстрації та приклади варіантів здійснення вимірювання афінності зв'язування описано далі.

Антитіло із "дозрілою афінністю" означає антитіло з однією або більше змінами в одній або більше гіперваріабельних ділянках (HVR) порівняно з початковим антитілом, яке не має таких змін, при цьому внаслідок таких змін відбувається покращення афінності антитіла до антигену.

40 Мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, описані у цьому описі, включають першу антигензв'язувальну ділянку та другу антигензв'язувальну ділянку, які здатні специфічно зв'язуватися з щонайменше двома відмінними типами антигенів.

В одному варіанті здійснення потрібно тільки, щоб перша антигензв'язувальна ділянка та друга антигензв'язувальна ділянка мали активність зв'язування з фактором коагуляції крові IX (FIX) та/або активованим фактором коагуляції крові IX (FIXa) та фактором коагуляції крові X (FX), відповідно, та приклади включають ділянки, необхідні для зв'язування антигенів, такі як антитіла, молекули "скаффолд" (антитілоподібні молекули), або пептиди, або фрагменти, що містять такі ділянки. Молекули "скаффолд" - це молекули, які демонструють функцію шляхом зв'язування з молекулами-мішенями, та будь-який з поліпептидів можна застосовувати, доки вони є конформаційно стійкими поліпептидами, які можуть зв'язуватися з щонайменше одним антигеном-мішенню. Приклади таких поліпептидів включають варіабельні ділянки антитіла, фібрoneктин (WO 2002/032925), домен білка A (WO 1995/001937), домен LDL-рецептора A (WO 2004/044011, WO 2005/040229), анкірин (WO 2002/020565), та їм подібне, та також молекули, описані у документах Nygren et al. (Current Opinion in Structural Biology, 7: 463-469 (1997); та Journal of Immunol Methods, 290: 3-28 (2004)), Binz et al. (Nature Biotech 23: 1257-1266 (2005)), та Hosse et al. (Protein Science 15: 14-27 (2006)). Крім того, як згадується у Curr Opin Mol Ther. 2010 Aug; 12(4): 487-95 і Drugs. 2008; 68(7): 901-12, можна застосовувати пептидні молекули, які можуть зв'язуватися з антигенами-мішенями.

60 Поліпептиди у цьому винаході взагалі означають білки та пептиди, які мають довжину приблизно десять амінокислот або більше. Поліпептиди зазвичай походять від організмів, проте

особливо не обмежуються ними, та, наприклад, вони можуть складатися зі штучно побудованої послідовності. Вони можуть також бути будь-якими природними поліпептидами або синтетичними поліпептидами, рекомбінантними поліпептидами або їм подібним. Крім того, фрагменти вищезгаданих поліпептидів також включені до поліпептидів цього винаходу.

5 В одному варіанті здійснення приклади мультиспецифічних антигензв'язувальних молекул включають мультиспецифічні антитіла, які можуть зв'язуватися специфічно з щонайменше двома відмінними антигенами або двома відмінними епітопами на одному й тому ж антигені.

В одному варіанті здійснення мультиспецифічні антитіла цього винаходу – це біспецифічні антитіла (BsAb) (їх можна також називати антитілами з подвійною специфічністю).

10 У цьому описі терміни "активність заміщувати кофакторну функцію FVIII", "активність заміщувати FVIII" та "активність заміщувати функцію FVIII" застосовуються синонімічно та означають активність зв'язування з FIX та/або FIXa та FX для сприяння активації FX (сприяння утворенню активованого фактора коагуляції крові X (FXa)).

15 В одному варіанті здійснення мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які мають активність заміщувати кофакторну функцію FVIII, - це мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX.

У певних варіантах здійснення мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які мають активність заміщувати кофакторну функцію FVIII, - це мультиспецифічні антитіла, які зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX. В іншому специфічному варіанті здійснення мультиспецифічні антитіла, які зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX, - це біспецифічні антитіла, які зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX.

20 Термін "біспецифічні антитіла, які зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX" означає біспецифічне антитіло, яке здатне зв'язуватися з FIX та/або FIXa та FX з достатньою афінністю, так що таке антитіло є корисним як діагностичний та/або терапевтичний агент при спрямованій дії на FIX та/або FIXa та FX. В одному варіанті здійснення ступінь зв'язування FIX- та/або FIXa-зв'язувального та FX-зв'язувального біспецифічного антитіла з непов'язаним білком, який не є FIX, білком, який не є FIXa, або білком, який не є FX, становить менш ніж 10% від зв'язування антитіла з FIX та/або FIXa та FX, як вимірюється (наприклад, за допомогою радіологічного імуноаналізу (PIA)). У певних варіантах здійснення антитіло, що зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, має константу дисоціації (Kd) 100 мкМ або менше, 10 мкМ або менше, 1 мкМ або менше, 100 нМ або менше, 10 нМ або менше, 1 нМ або менше, 0,1 нМ або менше, 0,01 нМ або менше або 0,001 нМ або менше (наприклад, 10^{-5} М або менше, наприклад, від 10^{-5} М до 10^{-10} М, наприклад, від 10^{-6} М до 10^{-10} М). У певних варіантах здійснення біспецифічне антитіло, що зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, зв'язується з епітопами у FIX, FIXa та FX, які є консервативними серед FIX, серед FIXa та серед FX від різних зразків, відповідно.

30 У цьому винаході, у певних варіантах здійснення, термін "антитіло" застосовується синонімічно з терміном "антигензв'язувальна молекула". У цьому винаході терміни "антитіло" та "антигензв'язувальна молекула" застосовуються у найширшому сенсі, та вони включають моноклональні антитіла, поліклональні антитіла, варіанти антитіл (такі як химерні антитіла, гуманізовані антитіла, мінітіла (низькомолекулярні антитіла) (включаючи фрагменти антитіл, до яких доволіно можна додати інші молекули), та мультиспецифічні антитіла), доки вони демонструють бажану антигензв'язувальну активність або біологічну активність. Приклади "антитіла" або "антигензв'язувальної молекули" у цьому винаході включають молекулу, у якій молекулу-скаффолд, що зв'язується з HAS, було додано до Fab (антитіло, у якому нормальною є тільки частина Fab). Крім того, у цьому винаході "антитіло" може також бути поліпептидом або гетеромерним мультимером. Переважні антитіла – це моноклональні антитіла, химерні антитіла, гуманізовані антитіла, антитіла людини, злиті з Fc антитіла та мінітіла, такі як фрагменти антитіл.

50 Як застосовується у цьому описі, термін "антитіло" означає зв'язувальний білок, який включає антигензв'язувальну ділянку. Терміни "зв'язувальна ділянка" та "антигензв'язувальна ділянка", як застосовуються у цьому описі, означають ділянку молекули антитіла, з якою антиген дійсно зв'язується. Термін "антигензв'язувальна ділянка" включає варіабельний домен важкого ланцюга (VH) антитіла та варіабельний домен легкого ланцюга (VL) антитіла (пару VH/VL).

55 "Фрагмент антитіла" означає молекулу, яка є відмінною від інтактного антитіла та яка включає частину інтактного антитіла, яка зв'язується з антигеном, з яким зв'язується інтактне антитіло. Приклади фрагментів антитіла включають, проте не обмежуються ними, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; діатіла; лінійні антитіла; молекули одноланцюгового антитіла (наприклад, scFv) та мультиспецифічні антитіла, утворені з фрагментів антитіл.

60 "Антитіло, що зв'язується з таким самим епітопом", що й референтне антитіло, означає антитіло, яке блокує зв'язування референтного антитіла з його антигеном у конкурентному

аналізі на 50% або більше, та, у свою чергу, референтне антитіло блокує зв'язування антитіла з його антигеном у конкурентному аналізі на 50% або більше. У цьому описі запропоновано приклад конкурентного аналізу.

5 Термін "химерне" антитіло означає антитіло, у якому частина важкого та/або легкого ланцюга походить від певного джерела або виду, проте решта важкого та/або легкого ланцюга походить від іншого джерела або виду.

"Клас" антитіла означає тип константного домену або константної ділянки, які притаманні його важкому ланцюгу. Існує п'ять головних класів антитіл: IgA, IgD, IgE, IgG та IgM, та декілька з цих класів можна далі розділити на підкласи (ізотипи), наприклад, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ та IgA₂. Константні домени важкого ланцюга, які відповідають різним класам імуноглобулінів, називаються альфа, дельта, епсилон, гамма та мію, відповідно.

"Ефективна кількість" агента, наприклад, фармацевтичного складу, означає ефективну кількість, у дозах та протягом періоду часу, необхідних для досягнення бажаного терапевтичного або профілактичного результату.

15 Термін "Fc-ділянка" у цьому описі застосовується для визначення C-кінцевої ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну, яка містить принаймні частину константної ділянки. Термін включає Fc-ділянки нативної послідовності та варіантні Fc-ділянки. В одному варіанті здійснення Fc-ділянка важкого ланцюга IgG людини простягається від Cys226 або від Pro230 до карбоксильного кінця важкого ланцюга. Однак, C-кінцевий лізин (Lys447) або гліцин-лізин (Gly446-Lys447) Fc-ділянки може бути присутнім або може бути відсутнім. Якщо інше особливо не вказано у цьому описі, нумерація амінокислотних залишків в Fc-ділянці або константній ділянці здійснюється згідно з номенклатурою EU, яку також називають EU-індексом, як описано у Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

25 "Каркасна ділянка" або "FR" означає залишки варіабельного домену, відмінні від залишків гіперваріабельних ділянок (HVR). FR варіабельного домену зазвичай складається з чотирьох FR-доменив: FR1, FR2, FR3 та FR4. Отже, послідовності HVR та FR зазвичай з'являються у наступній послідовності у VH (або VL): FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

30 Терміни "повнорозмірне антитіло", "інтактне антитіло" та "повне антитіло" застосовуються у цьому описі взаємозамінним чином та означають антитіло, яке має структуру, суттєво подібну до структури нативного антитіла, або яке має важкі ланцюги, які містять Fc-ділянку, як визначається у цьому описі.

35 Терміни "клітина-хазяїн", "лінія клітини-хазяїна" та "культура клітини-хазяїна" застосовуються взаємозамінним чином та означають клітини, у які введено екзогенну нуклеїнову кислоту, включаючи потомство таких клітин. Клітини-хазяїни включають "трансформанти" та "трансформовані клітини", які включають первинно трансформовані клітини та потомство, що від них походить, незважаючи на кількість пасажів. Потомство може не бути повністю ідентичним батьківській клітині стосовно вмісту нуклеїнової кислоти, але воно може мати мутації. У цей опис включено потомство-мутанти, які мають таку ж саму функцію або біологічну активність, що й спочатку трансформована клітина, яку піддали скринінгу та вибрали.

40 "Антитіло людини" - це антитіло, яке має амінокислотну послідовність, яка відповідає амінокислотній послідовності антитіла, яке виробляється людиною або клітиною людини або яке походить від джерела, що не є людиною та що використовує репертуари антитіл людини або інші послідовності, які кодують антитіло людини. Це визначення антитіла людини специфічно виключає гуманізоване антитіло, яке включає антигензв'язувальні залишки не людини.

50 "Консенсусна каркасна ділянка людини" означає каркасну ділянку, яка представляє найчастіше виникаючі амінокислотні залишки у виборі послідовностей каркасних ділянок VL або VH імуноглобуліну людини. Зазвичай, вибір послідовностей VL або VH імуноглобуліну людини відбувається з підгрупи послідовностей варіабельного домену. Зазвичай, підгрупа послідовностей - це підгрупа як у Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3. В одному варіанті здійснення, для VL, підгрупа - це підгрупа каппа I, як у Kabat et al., supra. В одному варіанті здійснення, для VH, підгрупа - це підгрупа III, як у Kabat et al., supra.

55 "Гуманізоване" антитіло означає химерне антитіло, яке включає амінокислотні залишки від HVR не людини та амінокислотні залишки від FR людини. У певних варіантах здійснення гуманізоване антитіло включатиме по суті всі з щонайменше одного, а зазвичай двох варіабельних доменів, у яких усі або по суті усі HVR (наприклад, CDR) відповідають ділянкам антитіла не людини, та всі або по суті всі FR відповідають ділянкам антитіла людини.

60 Гуманізоване антитіло може довільно включати принаймні частину константної ділянки

антитіла, яка походить від антитіла людини. "Гуманізована форма" антитіла, наприклад, антитіла не людини, означає антитіло, яке зазнало гуманізації.

Термін "гіперваріабельна ділянка" або "HVR", як застосовується у цьому описі, означає кожну з ділянок варіабельного домену антитіла, які є гіперваріабельними у послідовності ("гіперваріабельні ділянки" або "CDR"), та/або утворюють структурно визначені петлі ("гіперваріабельні петлі"), та/або містять залишки, що контактують з антигеном ("контакти з антигеном"). Зазвичай, антитіла включають шість HVR: три у VH (H1, H2, H3) та три у VL (L1, L2, L3). Приклади HVR у цьому описі включають:

(а) гіперваріабельні петлі, що виникають на амінокислотних залишках 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) та 96-101 (H3) (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987));

(b) CDR, що виникають на амінокислотних залишках 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2) та 95-102 (H3) (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991));

(c) контакти з антигеном, що виникають на амінокислотних залишках 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2) та 93-101 (H3) (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996)); та

(d) комбінації (а), (b) та/або (c), включаючи амінокислотні залишки HVR 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3) та 94-102 (H3).

Якщо інше не вказано, залишки HVR та інші залишки у варіабельному домені (наприклад, залишки FR) нумеруються у цьому описі згідно з Kabat et al., *supra*.

"Імунокон'югат" – це антитіло, кон'юговане з однією або більше гетерологічними молекулами (гетерологічною молекулою), включаючи, проте не обмежуючись ним, цитотоксичний агент.

"Індивідуум" або "суб'єкт" - це ссавець. Ссавці включають, проте не обмежуються ними, свійських тварин (наприклад, корів, овець, котів, собак та коней), приматів (наприклад, людей та приматів, що не є людьми, наприклад мавп), кролів та гризунів (наприклад, мишей та щурів). У певних варіантах здійснення індивідуум або суб'єкт – це людина.

"Виділене" антитіло – це антитіло, яке було відокремлене від компонента його природного оточення. У деяких варіантах здійснення антитіло очищують до більш ніж 95% або 99% чистоти, що визначається за допомогою, наприклад, електрофорезу (наприклад, електрофорезу на поліакриламідному гелі у присутності додецилсульфату натрію (SDS-PAGE), ізоелектричного фокусування (IEF), капілярного електрофорезу) або хроматографії (наприклад, іонообмінної хроматографії або вискоєфективної рідинної хроматографії (HPLC) зі зворотною фазою). Для огляду способів оцінювання чистоти антитіла дивись, наприклад, Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007).

"Виділена" нуклеїнова кислота означає молекулу нуклеїнової кислоти, яку відокремили від компонента її природного оточення. Виділена нуклеїнова кислота включає молекулу нуклеїнової кислоти, яка міститься у клітинах, які зазвичай містять молекулу нуклеїнової кислоти, проте молекула нуклеїнової кислоти присутня позахромосомно або на хромосомній ділянці, відмінній від її природної хромосомної ділянки.

"Виділена нуклеїнова кислота, що кодує біспецифічне антитіло, яке зв'язується з FIX та/або FIXa та FX" означає одну або більше молекул нуклеїнової кислоти, які кодують важкий та легкий ланцюги антитіла (або їх фрагменти), включаючи такі молекули нуклеїнової кислоти у єдиному векторі або окремих векторах, та такі молекули нуклеїнової кислоти присутні на одній або більше ділянках у клітині-хазяїні.

Термін "моноклональне антитіло", як застосовується у цьому описі, означає антитіло, отримане від популяції по суті гомогенних антитіл, тобто, окремі антитіла, які складають популяцію, є ідентичними та/або зв'язуються з одним і тим же епітопом, за виключенням можливих варіантів антитіл, наприклад, таких, які містять природно виникаючі мутації, або таких, які утворюються під час виробництва препарату моноклонального антитіла, при цьому такі варіанти зазвичай присутні у невеликих кількостях. На відміну від препаратів поліклонального антитіла, які зазвичай включають відмінні антитіла, спрямовані проти відмінних детермінант (епітопів), кожне моноклональне антитіло препарату моноклонального антитіла спрямоване проти єдиної детермінанти на антигені. Отже, означення "моноклональне" вказує на характер антитіла, яке отримують з по суті гомогенної популяції антитіл, та його не слід розглядати для визначення того, що антитіло мусить вироблятися будь-яким певним способом. Наприклад, моноклональні антитіла для застосування згідно з цим винаходом можна отримати за різноманітними способами, включаючи, проте не обмежуючись ними, гібридомна методика, способи рекомбінантної ДНК, способи фагового дисплея та способи, що застосовують трансгенних тварин, які містять усі або частину локусів імуноглобуліну людини, при цьому такі

способи та інші приклади способів отримання моноклональних антитіл описуються у цьому описі.

"Нативні антитіла" означають природні молекули імуноглобуліну з різноманітними структурами. Наприклад, нативні антитіла IgG – це гетеротетрамерні глікопротеїни масою приблизно 150000 дальтон, які складаються з двох ідентичних легких ланцюгів та двох ідентичних важких ланцюгів, з'єднаних дисульфідним зв'язком. Від N- до C-кінця кожен важкий ланцюг має варіабельну ділянку (VH), яка також називається варіабельним важким доменом або варіабельним доменом важкого ланцюга, з наступними трьома константними доменами (CH1, CH2 та CH3). Подібно до цього від N- до C-кінця кожен легкий ланцюг має варіабельну ділянку (VL), яка також називається варіабельним легким доменом або варіабельним доменом легкого ланцюга, з наступним константним легким (CL) доменом. Легкий ланцюг антитіла можна віднести до одного з двох типів, які називаються каппа (κ) та лямбда (λ), на основі амінокислотної послідовності її константного домену.

Термін "листівка-вкладиш" застосовується, щоб позначати інструкції, які зазвичай включено у комерційні упаковки терапевтичних продуктів та які містять інформацію щодо призначення, застосування, дози, способу введення, комбінованої терапії, протипоказань та/або застережень стосовно застосування таких терапевтичних продуктів.

"Ідентичність амінокислотної послідовності у відсотках (%)" відносно референтної послідовності поліпептиду визначається як відсоткове відношення амінокислотних залишків у послідовності-кандидаті, які є ідентичними з амінокислотними залишками у референтній послідовності поліпептиду, після вирівнювання послідовностей та введення проміжків, якщо необхідно, для досягнення максимальної відсоткової ідентичності послідовності, при цьому будь-які консервативні заміни не вважаються частиною ідентичності послідовності. Вирівнювання з метою визначення відсоткової ідентичності амінокислотної послідовності можна виконувати за різними способами, які відповідають досвіду у галузі, наприклад, застосовуючи доступне комп'ютерне програмне забезпечення, таке як програмне забезпечення BLAST, BLAST-2, ALIGN, Megalign (DNASTAR) або GENETYX (зареєстрована торговельна марка) (Genetyx Co., Ltd.). Фахівці у цій галузі здатні визначити параметри, відповідні для вирівнювання послідовностей, включаючи будь-які алгоритми, необхідні для досягнення максимального вирівнювання по усій довжині послідовностей, що порівнюються.

Комп'ютерна програма порівняння послідовностей ALIGN-2 була розроблена Genentech, Inc., та програмний код було зареєстровано з документацією користувача у U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559, де він зареєстрований за U.S. Copyright Registration No. TXU510087. Програма ALIGN-2 публічно доступна від Genentech, Inc., південний Сан-Франциско, Каліфорнія, або її можна компілювати з програмного коду. Програму ALIGN-2 слід компілювати для застосування на платформі операційної системи UNIX, включаючи цифрову UNIX V4.0D. Усі параметри порівняння послідовностей задаються програмою ALIGN-2, та вони не змінюються. У ситуаціях, коли ALIGN-2 застосовується для порівняння амінокислотних послідовностей, ідентичність у % амінокислотних послідовностей даної амінокислотної послідовності А до, з або проти даної амінокислотної послідовності В (що можна альтернативно перефразувати як дана амінокислотна послідовність А, яка має або включає певну ідентичність у % амінокислотних послідовностей до, з або проти даної амінокислотної послідовності В), підраховується наступним чином:

100 помножити на результат ділення X/Y ,

де X – це кількість амінокислотних залишків, порашованих як ідентичні пари програмою вирівнювання послідовностей ALIGN-2 у цьому програмному вирівнюванні А та В, та де Y – це загальна кількість амінокислотних залишків у В. Буде визначено, що там, де довжина амінокислотної послідовності А не дорівнює довжині амінокислотної послідовності В, ідентичність у % амінокислотних послідовностей А до В не буде дорівнювати ідентичності у % амінокислотних послідовностей В до А. Якщо інше специфічно не стверджується, усі значення ідентичності у % амінокислотних послідовностей, які застосовуються у цьому описі, отримують так, як описано у безпосередньо попередньому абзаці із застосуванням комп'ютерної програми ALIGN-2.

Термін "фармацевтичний склад" означає препарат, який має таку форму, щоб біологічна активність активного інгредієнта, що міститься у ньому, була ефективною, та який не містить жодних додаткових компонентів, які є неприйнятно токсичними для суб'єкта, якому буде вводитися цей склад.

"Фармацевтично прийнятний носій" означає інгредієнт у фармацевтичному складі, відмінний від активного інгредієнта, який є нетоксичним для суб'єкта. Фармацевтично прийнятний носій включає, проте не обмежується ними, буфер, допоміжну речовину, стабілізатор або консервант.

Терміни "FIX", "FIXa" та "FX", як застосовуються у цьому описі, означають будь-який нативний "FIX", будь-який нативний "FIXa" та будь-який нативний "FX", відповідно, від будь-якого хребетного джерела, включаючи ссавців, таких як примати (наприклад, люди) та гризуни (наприклад, миші та щури), якщо інше не вказано. Терміни охоплюють "повнорозмірні" "FIX", "FIXa" та "FX", які не зазнали процесингу, а також будь-яку форму "FIX", "FIXa" та "FX", яка стала результатом процесингу у клітині. Терміни також охоплюють природні варіанти "FIX", "FIXa" та "FX", наприклад, сплайс-варіанти або алельні варіанти.

Як застосовується у цьому описі, "лікування" (та його граматичні форми, такі як "лікувати" або "здійснення лікування") означає клінічне втручання у спробі змінити природний стан індивідуума, якого лікують, та його можна здійснювати або для профілактики, або під час перебігу клінічної патології. Бажані ефекти лікування включають, проте не обмежуються ними, профілактику виникнення або рецидиву хвороби, полегшення симптомів, зменшення будь-яких прямих або непрямих наслідків хвороби, попередження метастазу, зниження інтенсивності прогресування хвороби, зменшення інтенсивності або тимчасове полегшення стану хвороби та ремісію або покращення прогнозу. У деяких варіантах здійснення антитіла цього винаходу застосовуються для відтермінування розвитку хвороби або уповільнення розвитку хвороби.

Терміни "варіабельна ділянка" або "варіабельний домен" означають домен важкого або легкого ланцюгів антитіла, який залучається у зв'язування антитіла з антигеном. Варіабельні домени важкого ланцюга та легкого ланцюга (VH та VL, відповідно) нативного антитіла зазвичай мають схожі структури, при цьому кожен домен включає чотири консервативні каркасні ділянки (FR) та три гіперваріабельні ділянки (HVR). [Дивись, наприклад, Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007).] Єдиного домену VH або VL може бути достатньо для надання антигензв'язувальної специфічності. Крім того, антитіла, які зв'язуються з певним антигеном, можна виділити, застосовуючи домен VH або VL з антитіла, яке зв'язується з цим антигеном, щоб здійснити скринінг бібліотеки комплементарних доменів VH або VL, відповідно. Дивись, наприклад, [Portolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991)].

Термін "вектор", як застосовується у цьому описі, означає молекулу нуклеїнової кислоти, спроможну розмножити іншу нуклеїнову кислоту, до якої вона приєднана. Термін включає вектор, який є нуклеїновокислотою структурою, що самореплікується, а також вектор, включений у геном клітини-хазяїна, у яку він був введений. Певні вектори спроможні спрямовувати експресію нуклеїнових кислот, з якими вони оперативно зшиті. Такі вектори позначаються у цьому описі як "вектори експресії".

II. Композиції та способи

В одному аспекті цей винахід засновується, частково, на мультиспецифічних антигензв'язувальних молекулах, які мають активність заміщувати кофакторну функцію FVIII. У певних варіантах здійснення пропонуються мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX. Мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули цього винаходу є корисними, наприклад, для лікування кровотечі, хвороби, яка супроводжується кровотечею, або хвороби, спричиненої кровотечею.

А. Приклади мультиспецифічних антигензв'язувальних молекул, які зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX.

В одному аспекті цим винаходом пропонуються виділені мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX. У певних варіантах здійснення мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули є біспецифічними антитілами, які зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX, та такі біспецифічні антитіла мають активність заміщувати кофакторну функцію FVIII.

Біспецифічне антитіло, яке зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, ACE910 (еміцизумаб), – це антитіло, яке описано у патентному документі (WO 2012/067176) та яке описано нижче.

Це антитіло являє собою біспецифічне антитіло, в якому перший поліпептид і третій поліпептид є асоційованими і другий поліпептид і четвертий поліпептид є асоційованими, причому біспецифічне антитіло включає перший поліпептид, який являє собою Н-ланцюг, що містить амінокислотні послідовності за SEQ ID NO: 1, 2 і 3 HVR-H1, HVR-H2 і HVR-H3 (CDR Н-ланцюга Q499), відповідно; другий поліпептид, який являє собою Н-ланцюг, що містить амінокислотні послідовності за SEQ ID NO: 4, 5 і 6 HVR-H1, HVR-H2 і HVR-H3 (CDR Н-ланцюга J327), відповідно; і третій і четвертий поліпептиди, які є однаковими L-ланцюгами, що містять амінокислотні послідовності за SEQ ID NO: 7, 8 і 9 HVR-L1, HVR-L2 і HVR-L3 (CDR L-ланцюга L404), відповідно.

Ще конкретніше, це антитіло являє собою біспецифічне антитіло, в якому перший поліпептид і третій поліпептид є асоційованими і другий поліпептид і четвертий поліпептид є

асоційованими, причому це біспецифічне антитіло включає перший поліпептид, який являє собою Н-ланцюг, що містить амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 45 варіабельної ділянки Н-ланцюга; другий поліпептид, який являє собою Н-ланцюг, що містить амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 46 варіабельної ділянки Н-ланцюга; і третій і четвертий поліпептиди, які є однаковими L-ланцюгами, що містять, амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 47 варіабельної ділянки L-ланцюга.

Ще конкретніше це антитіло являє собою біспецифічне антитіло, в якому перший поліпептид і третій поліпептид є асоційованими і другий поліпептид і четвертий поліпептид є асоційованими, причому біспецифічне антитіло включає перший поліпептид, який являє собою Н-ланцюг, що складається з амінокислотної послідовності за SEQ ID NO: 10; другий поліпептид, який являє собою Н-ланцюг, що складається з амінокислотної послідовності за SEQ ID NO: 11; і третій і четвертий поліпептид, які є однаковими L-ланцюгами, що складаються з амінокислотної послідовності за SEQ ID NO: 12 (Q499-z121/J327-z119/L404-k).

Мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули цього винаходу являють собою мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які мають функцію заміщувати функцію FVIII, де молекули включають першу антигензв'язувальну ділянку, яка зв'язується з FIX і/або FIXa, і другу антигензв'язувальну ділянку, яка зв'язується з FX,

де перша антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга і варіабельний домен легкого ланцюга,

де варіабельний домен важкого ланцюга (Q499) включає HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 1, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 2, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 3, і

варіабельний домен легкого ланцюга (QNK131) включає HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 162, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 163, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 164, і

де друга антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга і варіабельний домен легкого ланцюга,

де варіабельний домен важкого ланцюга (J327) включає HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 4, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 5, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 6, і

варіабельний домен легкого ланцюга (JNL095) включає HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 165, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 166, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 167;

де один або більше амінокислотних залишків замінені іншими амінокислотами, видалені або вставлені в щонайменше одну з HVR.

У певних варіантах здійснення мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули цього винаходу – це мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які мають функцію заміщувати функцію FVIII.

Крім того, в інших варіантах здійснення мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули цього винаходу – це мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які мають знижену реакційну здатність по відношенню до антиідіотипічного антитіла до ACE910 (еміцизумабу) порівняно з ACE910 (еміцизумабом). У цьому описі фраза "що мають знижену реакційну здатність по відношенню до антиідіотипічного антитіла до ACE910 (еміцизумабу) порівняно з ACE910 (еміцизумабом)" означає, що, коли зв'язувальна спроможність (%) між антиідіотипічним антитілом та міченим ACE910 вимірюється за допомогою способу, описаного у прикладі 1, та якщо концентрація антитіла, яку слід виміряти, становить 100 мкг/мл, зв'язувальна спроможність переважно знижується на 10% або більше, переважніше вона знижується на 20% або більше та іще переважніше знижується на 30% або більше.

Крім того, в інших варіантах здійснення мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули – це мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які мають підвищену активність заміщувати кофакторну функцію FVIII та вищу активність навіть при низькій концентрації антитіла порівняно з ACE910 (еміцизумабом).

В інших варіантах здійснення мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули не мають по суті активності пригнічувати активацію FIX та мають підвищену активність заміщувати кофакторну функцію FVIII порівняно з ACE910 (еміцизумабом). У цьому описі "що не мають по суті активності пригнічувати активацію FIX" означає, що коли значення оптичної густини (OD) вимірюються із застосуванням способу, продемонстрованого у прикладах, зниження значення оптичної густини (OD) порівняно з контрольним значенням OD становить 0,025 або менше, переважно 0,02 або менше та переважніше 0,01 або менше.

В одному варіанті здійснення варіабельний домен важкого ланцюга першої

антигензв'язувальної ділянки мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули цього винаходу являє собою варіабельний домен важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки, де щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 31, 34, 97, 98, 100, 100a, 100b і 100e згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки або видаленим з нього.

В одному варіанті здійснення варіабельний домен легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки цього винаходу являє собою варіабельний домен легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки, де щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 26, 27, 30, 31, 32, 53, 55, 92, 93, 95 і 96 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою або вставленим у варіабельний домен легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки.

В одному варіанті здійснення варіабельний домен важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки цього винаходу являє собою варіабельний домен важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки, де щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 31, 51, 56, 57, 59, 61, 62, 65 і 102 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у варіабельному домені важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки.

В одному варіанті здійснення варіабельний домен легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки цього винаходу являє собою варіабельний домен легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки, де щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 50, 92, 94, 95, 95a і 96 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у варіабельному домені легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки або видаленим з нього.

В одному варіанті здійснення, мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула цього винаходу являє собою мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу, де:

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 31, 34, 97, 98, 100, 100a, 100b і 100e згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки або видаленим з нього,

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 26, 27, 30, 31, 32, 53, 55, 92, 93, 95 і 96 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у варіабельному домені легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки або вставленим в нього,

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 31, 51, 56, 57, 59, 61, 62, 65 і 102 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у варіабельному домені важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки, і

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 50, 92, 94, 95, 95a і 96 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у варіабельному домені легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки або видаленим з нього.

В одному варіанті здійснення, варіабельний домен важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули цього винаходу являє собою варіабельний домен важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки, де:

у варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки амінокислотний залишок на позиції 31 являє собою гістидин, амінокислотний залишок на позиції 34 являє собою аланін, амінокислотний залишок на позиції 97 являє собою аспарагінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 98 являє собою серин, амінокислотний залишок на позиції 100 являє собою аспарагінову кислоту або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 100a являє собою аспарагінову кислоту або видалений, амінокислотний залишок на позиції 100b являє собою аланін або гістидин або амінокислотний залишок на позиції 100e являє собою гістидин або ізолейцин, при цьому вказана позиція відповідає нумерації за Кабат.

В одному варіанті здійснення варіабельний домен легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки цього винаходу являє собою варіабельний домен легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки, де:

у варіабельному домені легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки амінокислотний залишок на позиції 26 являє собою треонін, амінокислотний залишок на позиції 27 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 30 являє собою аргінін,

61 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 62 являє собою лізин, амінокислотний залишок на позиції 65 являє собою аспарагін або глутамін або амінокислотний залишок на позиції 102 являє собою валін, при цьому вказана позиція відповідає нумерації за Кабат; і

5 у варіабельному домені легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки амінокислотний залишок на позиції 24 являє собою треонін, амінокислотний залишок на позиції 26 являє собою глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 27 являє собою глутамін, амінокислотний залишок на позиції 29 являє собою серин, амінокислотний залишок на позиції 30 являє собою глутамін, серин або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на
10 позиції 31 являє собою аргінін, амінокислотний залишок на позиції 32 являє собою глутамін або глутамінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 50 являє собою глутамін, амінокислотний залишок на позиції 92 являє собою аланін, амінокислотний залишок на позиції 94 являє собою аспарагінову кислоту, амінокислотний залишок на позиції 95 являє собою тирозин або видалений або амінокислотний залишок на позиції 96 являє собою треонін, при цьому
15 вказана позиція відповідає нумерації за Кабат.

В одному варіанті здійснення варіабельний домен важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули цього винаходу являє собою варіабельний домен важкого ланцюга, який включає:

20 1) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 168, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 169, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 170 (QH01);
2) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 171, HVR-H2, що
включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 172, і HVR-H3, що включає амінокислотну
25 послідовність за SEQ ID NO: 173 (QH02);
3) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 174, HVR-H2, що
включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 175, і HVR-H3, що включає амінокислотну
послідовність за SEQ ID NO: 176 (QH03);
4) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 177, HVR-H2, що
30 включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 178, і HVR-H3, що включає амінокислотну
послідовність за SEQ ID NO: 179 (QH04);
5) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 180, HVR-H2, що
включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 181, і HVR-H3, що включає амінокислотну
послідовність за SEQ ID NO: 182 (QH06); або
35 6) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 183, HVR-H2, що
включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 184, і HVR-H3, що включає амінокислотну
послідовність за SEQ ID NO: 185 (QH07).

В одному варіанті здійснення варіабельний домен легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули цього
40 винаходу являє собою варіабельний домен легкого ланцюга, який включає:

1) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 186, HVR-L2, що
включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 187, і HVR-L3, що включає амінокислотну
послідовність за SEQ ID NO: 188 (QL21);
2) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 189, HVR-L2, що
45 включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 190, і HVR-L3, що включає амінокислотну
послідовність за SEQ ID NO: 191 (QL22);
3) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 192, HVR-L2, що
включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 193, і HVR-L3, що включає амінокислотну
послідовність за SEQ ID NO: 194 (QL23);
50 4) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 195, HVR-L2, що
включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 196, і HVR-L3, що включає амінокислотну
послідовність за SEQ ID NO: 197 (QL24);
5) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 198, HVR-L2, що
включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 199, і HVR-L3, що включає амінокислотну
55 послідовність за SEQ ID NO: 200 (QL25);
6) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 201, HVR-L2, що
включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 202, і HVR-L3, що включає амінокислотну
послідовність за SEQ ID NO: 203 (QL26);
7) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 204, HVR-L2, що
60 включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 205, і HVR-L3, що включає амінокислотну

послідовність за SEQ ID NO: 260 (JL02);

3) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 261, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 262, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 263 (JL03);

5 4) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 264, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 265, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 266 (JL04);

5) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 267, HVR-L2, що
включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 268, і HVR-L3, що включає амінокислотну
10 послідовність за SEQ ID NO: 269 (JL05);

6) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 270, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 271, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 272 (JL06);

7) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 273, HVR-L2, що
15 включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 274, і HVR-L3, що включає амінокислотну
послідовність за SEQ ID NO: 275 (JL07);

8) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 276, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 277, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 278 (JL08);

20 9) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 279, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 280, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 281 (JL09);

10) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 282, HVR-L2, що
включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 283, і HVR-L3, що включає амінокислотну
25 послідовність за SEQ ID NO: 284 (JL10); або

11) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 285, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 286, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 287 (JL11).

В одному варіанті здійснення мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула цього винаходу являє собою мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу, де перша антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга і варіабельний домен легкого ланцюга, де варіабельний домен важкого ланцюга включає:

35 1) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 168, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 169, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 170 (QH01);

2) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 171, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 172, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 173 (QH02);

3) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 174, HVR-H2, що
40 включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 175, і HVR-H3, що включає амінокислотну
послідовність за SEQ ID NO: 176 (QH03);

4) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 177, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 178, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 179 (QH04);

45 5) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 180, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 181, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 182 (QH06); або

50 6) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 183, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 184, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 185 (QH07); і

варіабельний домен легкого ланцюга включає:

1) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 186, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 187, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 188 (QL21);

55 2) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 189, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 190, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 191 (QL22);

60 3) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 192, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 193, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 194 (QL23);

11) HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 252, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 253, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 254 (JH11); і

варіабельний домен легкого ланцюга включає:

5 1) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 255, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 256, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 257 (JL01);

2) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 258, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 259, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 260 (JL02);

3) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 261, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 262, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 263 (JL03);

4) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 264, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 265, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 266 (JL04);

5) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 267, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 268, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 269 (JL05);

20 6) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 270, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 271, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 272 (JL06);

7) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 273, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 274, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 275 (JL07);

8) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 276, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 277, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 278 (JL08);

9) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 279, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 280, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 281 (JL09);

10) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 282, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 283, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 284 (JL10); або

35 11) HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 285, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 286, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 287 (JL11).

В одному варіанті здійснення цього винаходу мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули цього винаходу – це мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які мають функцію заміщувати функцію фактора коагуляції крові VIII, де молекули включають першу антигензв'язувальну ділянку, яка зв'язується з фактором коагуляції крові IX та/або активованим фактором коагуляції крові IX, та другу антигензв'язувальну ділянку, яка зв'язується з фактором коагуляції крові X, де перша антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга (Q499) за SEQ ID NO: 45 та варіабельний домен легкого ланцюга (QNK131) за SEQ ID NO: 13, та друга антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга (J327) за SEQ ID NO: 46 та варіабельний домен легкого ланцюга (JNL095) за SEQ ID NO: 31, та де один або більше амінокислотних залишків замінені іншими амінокислотами у принаймні одному з варіабельних доменів важкого ланцюга або варіабельних доменів легкого ланцюга або видалені з нього.

50 У варіанті здійснення у варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки цього винаходу щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 31, 34, 39, 97, 98, 100, 100a, 100b і 100e згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у зазначеному вище варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки або видаленим з нього.

55 У варіанті здійснення у варіабельному домені легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки цього винаходу щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 26, 27, 30, 31, 32, 38, 45, 53, 55, 60, 70, 76, 79, 80, 83, 85, 92, 93, 95 і 96 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у зазначеному вище варіабельному домені легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки або вставленим в нього.

У варіанті здійснення у варіабельному домені важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки цього винаходу щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 28, 31, 39, 51, 56, 57, 59, 61, 62, 65, 67, 73, 82b і 102 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у зазначеному вище варіабельному домені важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки.

У варіанті здійснення у варіабельному домені легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки цього винаходу щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 3, 8, 15, 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 38, 48, 49, 50, 79, 92, 94, 95, 95a і 96 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у зазначеному вище варіабельному домені легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки або видаленим з нього.

У варіанті здійснення в мультиспецифічній антигензв'язувальній молекулі цього винаходу:

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 31, 34, 39, 97, 98, 100, 100a, 100b і 100e згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у зазначеному вище варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки або видаленим з нього;

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 26, 27, 30, 31, 32, 38, 45, 53, 55, 60, 70, 76, 79, 80, 83, 85, 92, 93, 95 і 96 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у зазначеному вище варіабельному домені легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки або вставленим в нього;

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 28, 31, 39, 51, 56, 57, 59, 61, 62, 65, 67, 73, 82b і 102 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у зазначеному вище варіабельному домені важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки; і

щонайменше один амінокислотний залишок, вибраний з амінокислотних залишків на позиціях 3, 8, 15, 24, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 38, 48, 49, 50, 79, 92, 94, 95, 95a і 96 згідно з нумерацією за Кабат, є заміненим іншою амінокислотою у зазначеному вище варіабельному домені легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки або видаленим з нього.

У варіанті здійснення у варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки цього винаходу амінокислотний залишок на позиції 31 (згідно з нумерацією за Кабат; те ж саме застосовується до наступного) являє собою гістидин; амінокислотний залишок на позиції 34 являє собою аланін; амінокислотний залишок на позиції 39 являє собою глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 97 являє собою аспарагінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 98 являє собою серин; амінокислотний залишок на позиції 100 являє собою аспарагінову кислоту або глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 100a являє собою аспарагінову кислоту або видалений; амінокислотний залишок на позиції 100b являє собою аланін або гістидин; і амінокислотний залишок на позиції 100e являє собою гістидин або ізолейцин, у зазначеному вище варіабельному домені важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки.

У варіанті здійснення у варіабельному домені легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки цього винаходу амінокислотний залишок на позиції 26 (згідно з нумерацією за Кабат; те ж саме застосовується до наступного) являє собою треонін; амінокислотний залишок на позиції 27 являє собою аргінін; амінокислотний залишок на позиції 30 являє собою аргінін; амінокислотний залишок на позиції 31 являє собою аргінін; амінокислотний залишок на позиції 32 являє собою аспарагінову кислоту або глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 38 являє собою лізин; амінокислотний залишок на позиції 45 являє собою глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 53 являє собою аргінін; амінокислотний залишок на позиції 55 являє собою глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 60 являє собою аспарагінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 70 являє собою аспарагінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 76 являє собою аспарагін; амінокислотний залишок на позиції 79 являє собою глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 80 являє собою пролін або аланін; амінокислотний залишок на позиції 83 являє собою метіонін або аланін; амінокислотний залишок на позиції 85 являє собою треонін; амінокислотний залишок на позиції 92 являє собою аргінін; амінокислотний залишок на позиції 93 являє собою серин або аспарагінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 95 являє собою пролін або амінокислотний залишок на позиції 96 являє собою гліцин, у зазначеному вище варіабельному домені легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки.

У варіанті здійснення у варіабельному домені важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки цього винаходу амінокислотний залишок на позиції 28 (згідно з нумерацією за Кабат; те ж саме застосовується до наступного) являє собою глутамінову кислоту; амінокислотний

залишок на позиції 56 являє собою треонін або аргінін; амінокислотний залишок на позиції 57 являє собою валін; амінокислотний залишок на позиції 59 являє собою серин; амінокислотний залишок на позиції 61 являє собою аргінін; амінокислотний залишок на позиції 62 являє собою лізин; амінокислотний залишок на позиції 65 являє собою аспарагін або глутамін; амінокислотний залишок на позиції 67 являє собою лейцин; амінокислотний залишок на позиції 73 являє собою ізолейцин; амінокислотний залишок на позиції 82b являє собою глутамінову кислоту або амінокислотний залишок на позиції 102 являє собою валін, у зазначеному вище варіабельному домені важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки;

амінокислотний залишок на позиції 3 (згідно з нумерацією за Кабат; те ж саме застосовується до наступного) являє собою глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 8 являє собою пролін; амінокислотний залишок на позиції 15 являє собою лейцин; амінокислотний залишок на позиції 24 являє собою треонін; амінокислотний залишок на позиції 26 являє собою глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 27 являє собою глутамін; амінокислотний залишок на позиції 29 являє собою серин; амінокислотний залишок на позиції 30 являє собою глутамін, серин або глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 31 являє собою аргінін; амінокислотний залишок на позиції 32 являє собою глутамін або глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 38 являє собою глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 48 являє собою ізолейцин; амінокислотний залишок на позиції 49 являє собою тирозин; амінокислотний залишок на позиції 50 являє собою глутамін; амінокислотний залишок на позиції 79 являє собою глутамінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 92 являє собою аланін; амінокислотний залишок на позиції 94 являє собою аспарагінову кислоту; амінокислотний залишок на позиції 95 являє собою аспарагінову кислоту або аланін; амінокислотний залишок на позиції 95a являє собою тирозин або видалений або амінокислотний залишок на позиції 96 являє собою треонін, у зазначеному вище варіабельному домені легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки.

У варіанті здійснення варіабельний домен важкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули цього винаходу являє собою варіабельний домен важкого ланцюга, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 або SEQ ID NO: 60.

У варіанті здійснення варіабельний домен легкого ланцюга першої антигензв'язувальної ділянки мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули цього винаходу являє собою варіабельний домен легкого ланцюга, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, або SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, або SEQ ID NO: 72.

У варіанті здійснення варіабельний домен важкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули цього винаходу являє собою варіабельний домен важкого ланцюга, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82 або SEQ ID NO: 83.

У варіанті здійснення варіабельний домен легкого ланцюга другої антигензв'язувальної ділянки мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули цього винаходу являє собою варіабельний домен легкого ланцюга, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, або SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 93, або SEQ ID NO: 94.

У варіанті здійснення мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула цього винаходу являє собою мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу,

де перша антигензв'язувальна ділянка включає:

варіабельний домен важкого ланцюга (QH) за SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59 або SEQ ID NO: 60; і

варіабельний домен легкого ланцюга (QL) за SEQ ID NO: 61, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, або SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, або SEQ ID NO: 72, і

де друга антигензв'язувальна ділянка включає:

варіабельний домен важкого ланцюга (JH) за SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 79, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 82 або SEQ ID NO: 83; і

варіабельний домен легкого ланцюга (JL) за SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 87, або SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 89, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 91, SEQ ID NO: 92, SEQ ID NO: 93, або SEQ ID NO: 94.

У варіанті здійснення цей винахід передбачає мультиспецифічну антигензв'язувальну

включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 71, варіабельний домен важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 79, і варіабельний домен легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 90;

5 (r) мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула (QH06/QL32//JH09/JL09), яка включає варіабельний домен важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 60, варіабельний домен легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 71, варіабельний домен важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 81, і варіабельний домен легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 92;

10 (s) мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула (QH06/QL30//JH10/JL10), яка включає варіабельний домен важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 60, варіабельний домен легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 69, варіабельний домен важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 82, і варіабельний домен легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 93;

20 (t) мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула (QH07/QL33//JH11/JL11), яка включає варіабельний домен важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 105, варіабельний домен легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 72, варіабельний домен важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 83, і варіабельний домен легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 94;

(u) мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка зв'язується з епітопами, ідентичними як епітопу у FIX і/або FIXa, так і епітопу у FX, які розпізнаються будь-яким з антитіл від (a) до (t);

30 (v) мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка конкурує за зв'язування як з епітопом у FIX і/або FIXa, так і з епітопом у FX, які розпізнаються будь-яким з антитіл від (a) до (t).

У варіанті здійснення константна ділянка важкого ланцюга мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули цього винаходу являє собою константну ділянку важкого ланцюга, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 118 або SEQ ID NO: 119.

35 У варіанті здійснення константна ділянка легкого ланцюга мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули цього винаходу являє собою константну ділянку легкого ланцюга, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 100 або SEQ ID NO: 102.

У варіанті здійснення мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула цього винаходу являє собою мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу, де перша антигензв'язувальна ділянка включає константну ділянку за (1) або (2) нижче, і друга антигензв'язувальна ділянка включає константну ділянку за (1) або (2) нижче, яка не є константною ділянкою, включеною в першу антигензв'язувальну ділянку:

(1) SEQ ID NO: 119 для константної ділянки важкого ланцюга і SEQ ID NO: 100 для константної ділянки легкого ланцюга;

45 (2) SEQ ID NO: 118 для константної ділянки важкого ланцюга і SEQ ID NO: 102 для константної ділянки легкого ланцюга.

У варіанті здійснення мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула цього винаходу являє собою мультиспецифічне антитіло. В наступному варіанті здійснення мультиспецифічне антитіло цього винаходу являє собою біспецифічне антитіло.

50 У варіанті здійснення цей винахід передбачає біспецифічне антитіло, яке включає варіабельний домен важкого ланцюга першого антитіла і варіабельний домен легкого ланцюга антитіла, що зв'язуються з FIX і/або FIXa, і варіабельний домен важкого ланцюга другого антитіла і варіабельний домен легкого ланцюга антитіла, що зв'язуються з FX, яке являє собою будь-яке біспецифічне антитіло з від (a) до (v) нижче:

55 (a) біспецифічне антитіло (QH01/QL21//JH01/JL01), яке включає варіабельний домен важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 56, варіабельний домен легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 61, варіабельний домен важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 73, і варіабельний домен легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 84;

У варіанті здійснення цей винахід передбачає біспецифічне антитіло, яке включає важкий ланцюг першого антитіла і легкий ланцюг антитіла, що зв'язуються з FIX і/або FIXa, і важкий ланцюг другого антитіла і легкий ланцюг антитіла, що зв'язуються з FX, яке являє собою будь-яке біспецифічне антитіло від (a) до (v) нижче:

- [illegible]

антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 123, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 132, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 143, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 154;

5 (m) біспецифічне антитіло (QH04/QL29//JH05/JL05), яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 123, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 133, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 142, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 153;

10 (n) біспецифічне антитіло (QH04/QL29//JH06/JL06), яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 123, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 133, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 143, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 154;

15 (o) біспецифічне антитіло (QH06/QL30//JH07/JL07), яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 124, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 134, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 144, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 155;

20 (p) біспецифічне антитіло (QH04/QL31//JH08/JL08), яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 123, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 135, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 145, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 156;

25 (q) біспецифічне антитіло (QH06/QL32//JH07/JL07), яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 124, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 136, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 144, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 155;

30 (r) біспецифічне антитіло (QH06/QL32//JH09/JL09), яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 124, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 136, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 146, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 157;

35 (s) біспецифічне антитіло (QH06/QL30//JH10/JL10), яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 124, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 134, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 147, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 158;

40 (t) біспецифічне антитіло (QH07/QL33//JH11/JL11), яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 125, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 137, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 148, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 159;

45 (u) біспецифічне антитіло, яке зв'язується з епітопами, ідентичними як епітопу у FIX і/або FIXa, так і епітопу у FX, які розпізнаються будь-яким з антитіл від (a) до (t);

(v) мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка конкурує за зв'язування як з епітопом у FIX і/або FIXa, так і з епітопом у FX, які розпізнаються будь-яким з антитіл від (a) до (t).

50 У варіанті здійснення цей винахід додатково передбачає мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу, яка має функцію заміщувати функцію фактора згортання крові VIII, яка включає першу антигензв'язувальну ділянку, яка зв'язується з фактором згортання крові IX і/або активованим фактором згортання крові IX, і другу антигензв'язувальну ділянку, яка зв'язується з фактором згортання крові X,

55 де перша антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга і варіабельний домен легкого ланцюга,

де варіабельний домен важкого ланцюга (Q499) включає HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 1, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 2, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 3,

60 де варіабельний домен легкого ланцюга (QNK131) включає HVR-L1, що включає

амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 162, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 163, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 164, і

5 де друга антигензв'язувальна ділянка включає варіабельний домен важкого ланцюга і варіабельний домен легкого ланцюга,

де варіабельний домен важкого ланцюга (J327) включає HVR-H1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 4, HVR-H2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 5, і HVR-H3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 6,

10 де варіабельний домен легкого ланцюга (JNL095) включає HVR-L1, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 165, HVR-L2, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 166, і HVR-L3, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 167.

В певних варіантах здійснення вказані вище антитіла від (a) до (v) являють собою антитіла, що мають функцію заміщувати функцію FVIII.

15 В інших варіантах здійснення вказані вище антитіла від (a) до (v) – це антитіла, у яких реакційна здатність по відношенню до антидіотипічного антитіла до ACE910 (еміцизумабу) є зниженою порівняно з ACE910 (еміцизумабом). У цьому описі фраза "реакційна здатність по відношенню до антидіотипічного антитіла до ACE910 (еміцизумабу) є зниженою порівняно з ACE910 (еміцизумабом)" означає, що, коли зв'язувальна спроможність (%) між антидіотипічним антитілом та міченим ACE910 вимірюється із застосуванням способів, описаних у цьому описі, та якщо випробовувану речовину додають у концентрації 100 мкг/мл, реакційна здатність переважно знижується на 10% або більше, переважніше вона знижується на 20% або більше, іще переважніше знижується на 30% або більше.

20 Антидіотипічні антитіла до ACE910 (еміцизумабу) можна отримати за допомогою, наприклад, наступного способу. F(ab')₂ Q499/L404, що розпізнає FIX(a), та F(ab')₂ J327/L404, що розпізнає FX, ACE910 (еміцизумабу) вводять кролям та отримують кролячу сироватку F(ab')₂ проти Q499/L404 та кролячу сироватку F(ab')₂ проти J327/L404. Одержані за допомогою сульфату амонію фракції цих сироваток застосовують до колонки, щоб видалити IgG-реактивні антитіла. Далі здійснюють афінну очистку, застосовуючи зв'язану з Q499/L404 (J327/L404) колонку, та J327/L404 (Q499/L404)-реактивні антитіла видаляються із застосуванням зв'язаної з J327/L404 (Q499/L404) колонки, та, таким чином, отримують поліклональні антидіотипічні антитіла, які специфічно зв'язуються з Q499/L404 (J327/L404).

25 Спроможність зв'язування (%) антидіотипічного антитіла з міченим ACE910 (еміцизумабом) можна вимірити за допомогою, наприклад, електрохімічного люмінесцентного імуноаналізу, та це дозволяє оцінити пригнічення зв'язування за допомогою випробовуваної речовини. Коли застосовуються антидіотипічні антитіла, отримані, як згадано вище, випробовувану речовину (біспецифічне антитіло) додають у концентрації 0, 1, 3, 10, 30 або 100 мкг/мл до суміші антидіотипічного антитіла до Q499/L404, антидіотипічного антитіла до J327/L404, міченого біотином ACE910 (еміцизумабу) та міченого SULFO-TAG ACE910 (еміцизумабу), та отриманий 30 змішаний розчин інкубують протягом ночі при низькій температурі. Потім змішаний розчин додають до планшета з 96 лунками, та планшет промивають, та потім вимірюють зв'язувальну спроможність за способом електрохімічної люмінесценції.

35 В інших варіантах здійснення, порівняно з ACE910 (еміцизумабом), вказані вище антитіла від (a) до (v) мають посилену активність заміщувати кофакторну функцію FVIII та вищу активність при низькій концентрації антитіла.

40 В інших варіантах здійснення вказані вище антитіла від (a) до (v) по суті не мають активності пригнічувати активацію FIX та мають підвищену активність заміщувати кофакторну функцію FVIII порівняно з ACE910 (еміцизумабом). У цьому описі фраза " по суті не мають активності пригнічувати активацію FIX" означає, що, коли оптична густина (OD) вимірюється за допомогою способу, продемонстрованого у цьому описі, зниження значення OD порівняно з контрольним значенням OD становить 0,025 або менше, переважно 0,02 або менше, переважніше 0,01 або менше.

Амінокислоти, що містяться в амінокислотних послідовностях, описаних у цьому описі, можуть піддаватися пост-трансляційній модифікації (наприклад, модифікація N-кінцевого глутаміну у піроглутамінову кислоту внаслідок піроглутамілування є добре відомою для фахівців у цій галузі). Природно, такі послідовності з модифікованими після трансляції амінокислотами також включаються до амінокислотних послідовностей, описаних у цьому описі.

У наступному аспекті винаходом пропонуються мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула або біспецифічне антитіло, що зв'язуються з тим же самим епітопом, що і запропоновані у цьому описі мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула або

біспецифічне антитіло, що зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX. Наприклад, у певних варіантах здійснення пропонуються мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула або біспецифічне антитіло, що зв'язуються з тим же самим епітопом, що і мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула або біспецифічне антитіло, згадані вище від (a) до (v).

У наступному аспекті винаходу біспецифічне антитіло, яке зв'язується з FIX та/або FIXa та FX згідно з будь-яким вищезгаданим варіантом здійснення, - це моноклональне антитіло, включаючи химерне антитіло, гуманізоване антитіло або антитіло людини. В одному варіанті здійснення біспецифічне антитіло, яке зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, - це фрагмент антитіла, наприклад, фрагмент (scFv)₂, діатіло або фрагмент F(ab')₂. В іншому варіанті здійснення антитіло – це повнорозмірне антитіло, наприклад, інтактне антитіло IgG4 або антитіло іншого класу або ізотипу, як визначено у цьому описі.

У наступному аспекті біспецифічне антитіло, яке зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, згідно з будь-яким вищезгаданим варіантом здійснення, може включати будь-які ознаки, самостійно або у комбінації, як описано у Розділах 1 – 7 нижче.

1. Афінність антитіла

У певних варіантах здійснення запропоноване у цьому описі антитіло має константу дисоціації (Kd), яка становить 100 мкМ або менше, 10 мкМ або менше, 1 мкМ або менше, 100 нМ або менше, 10 нМ або менше, 1 нМ або менше, 0,1 нМ або менше, 0,01 нМ або менше або 0,001 нМ або менше (наприклад, 10⁻⁵ М або менше, наприклад, від 10⁻⁵ М до 10⁻¹⁰ М, наприклад, від 10⁻⁶ М до 10⁻¹⁰ М).

В одному варіанті здійснення Kd вимірюють за допомогою аналізу зв'язування з міченим ізотопом антигеном (RIA). В одному варіанті здійснення RIA здійснюють з варіантом Fab антитіла, яке представляє інтерес, та його антигеном. Наприклад, афінність зв'язування розчину Fab стосовно антигену вимірюють шляхом урівноваження Fab мінімальною концентрацією (¹²⁵I)-міченого антигену у присутності серій титрування неміченого антигену з наступним захопленням зв'язаного антигену планшетом, покритим антитілом проти Fab (дивись, наприклад, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)). Для того, щоб створити умови для аналізу, планшети з багатьма лунками MICROTITER (зареєстрована торговельна марка) (Thermo Scientific) покривають протягом ночі 5 мкг/мл захоплюючого антитіла проти Fab (Cappel Labs) у 50 мМ карбонату натрію (pH 9,6), а потім блокують 2% (мас./об.) альбуміном бичачої сироватки у PBS (розчині з фосфатним буфером) протягом від 2 до 5 годин при кімнатній температурі (приблизно 23°C). На планшеті без адсорбенту (Nunc #269620) 100 пМ або 26 пМ [¹²⁵I]-антигену змішують з послідовними розведеннями Fab, що представляє інтерес (наприклад, узгоджується з визначенням антитіла проти VEGF, Fab-12, у Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)). Fab, що представляє інтерес, потім інкубують протягом ночі; проте інкубацію можна продовжувати протягом тривалішого періоду часу (наприклад, протягом приблизно 65 годин), щоб гарантовано відбулося урівноваження. Після цього суміші переносять до планшета захоплення для наступної інкубації при кімнатній температурі (наприклад, протягом однієї години). Розчин потім видалають, а планшет промивають вісім разів 0,1% полісорбатом 20 (TWEEN-20 (зареєстрована торговельна марка)) у PBS. Коли планшети висохнуть, додають 150 мкл/лунку сцинтилятора (MICROSCINT-20™; Packard) та піддають планшети рахуванню на гамма-лічильнику TOPCOUNT™ (Packard) протягом 10 хвилин. Концентрацію кожного Fab, яка становить менше ніж 20% максимального зв'язування або дорівнює їм, вибирають для використання в конкурентно-зв'язувальних аналізах.

Згідно з іншим варіантом здійснення Kd вимірюють, застосовуючи аналіз поверхневого плазмонного резонансу BIACORE (зареєстрована торговельна марка). Наприклад, аналіз із застосуванням BIACORE (зареєстрована торговельна марка)-200 або BIACORE (зареєстрована торговельна марка)-300 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ) здійснюють при 25°C з чипами іммобілізованого антигену CM5 при ~ 10 одиницях відповіді (RU). В одному варіанті здійснення біосенсорні чипи з карбоксиметилованого декстрану (CM5, BIAcore, Inc.) активуються N-етил-N'-(3-диметиламінопропіл)-карбодііміду гідрохлоридом (EDC) та N-гідроксисукцинімідом (NHS) згідно з інструкціями постачальника. Антиген розводять 10 мМ ацетатом натрію, pH 4,8, до 5 мкг/мл (~0,2 мкМ) перед впорскуванням при витраті потоку 5 мкл/хвилину, щоб отримати приблизно 10 одиниць відповіді (RU) з'єданого білка. Після впорскування антигену впорскується 1 М етаноламін, щоб блокувати групи, які не прореагували. Для вимірювання кінетичних параметрів впорскують послідовні двократні розведення Fab (від 0,78 нМ до 500 нМ) у PBS з 0,05% поверхнево-активної речовини (PBST) полісорбат-20 (TWEEN-20™) при 25°C при витраті потоку приблизно 25 мкл/хвилину. Швидкість асоціації (K_{on}) та швидкість дисоціації (K_{off}) розраховують, застосовуючи просту модель зв'язування Ленгмюра один до одного (BIACORE (зареєстрована торговельна марка) Evaluation Software версія 3.2), шляхом

одночасної обробки сенсограм асоціації та дисоціації. Рівноважну константу дисоціації (K_d) розраховують як відношення K_{off}/K_{on} . Дивись, наприклад, Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999). Якщо швидкість асоціації перебільшує $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ внаслідок описаного вище аналізу поверхневого плазмонного резонансу, тоді швидкість асоціації можна визначити шляхом застосування способу гасіння флюоресценції, який вимірює підвищення або зниження інтенсивності флюоресценцентного випромінювання (збудження = 295 нм; випромінювання = 340 нм; смуга пропускання 16 нм) при 25°C 20 нМ антитіла проти антигену (форма Fab) у PBS, pH 7,2, у присутності антигену у концентраціях, що підвищуються, як вимірюється у спектрометрі, такому як спектрофотометр, обладнаний зупиненням потоку (Aviv Instruments), або спектрофотометр серії 8000 SLM-AMINCO™ (ThermoSpectronic) з кюветою, що перемішується.

2. Фрагменти антитіла

У певних варіантах здійснення антитіло, що пропонується у цьому описі, - це фрагмент антитіла. Фрагменти антитіла включають, проте не обмежуються ними, (scFv)₂, діатіло або F(ab')₂ та інші фрагменти, описані нижче. Для огляду певних фрагментів антитіла дивись Hudson et al. Nat. Med. 9:129-134 (2003). Для огляду фрагментів scFv дивись, наприклад, Pluckthün, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994); дивись також WO 93/16185 та патенти США №№ 5,571,894 та 5,587,458. Для обговорення фрагментів F(ab')₂, які включають залишки епітопу зв'язування рецептора реутилізації та які мають подовжений період напіврозпаду in vivo, дивись патент США № 5,869,046.

Діатіла - це фрагменти антитіл з двома антигензв'язувальними ділянками, які можуть бути бівалентними або біспецифічними. Дивись, наприклад, [EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); та Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)].

Фрагменти антитіл можна отримати за різноманітними способами, включаючи, проте не обмежуючись ними, протеолітичне перетравлення інтактного антитіла, а також виробництво рекомбінантними клітинами-хазяїнами (наприклад, E. coli або фаг), як описано у цьому описі.

3. Химерні та гуманізовані антитіла

У певних варіантах здійснення антитіло, що пропонується у цьому описі, - це химерне антитіло. Певні химерні антитіла описуються, наприклад, у [патенті США № 4,816,567 та Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)]. В одному прикладі химерне антитіло включає варіабельну ділянку не людини (наприклад, варіабельну ділянку, що походить від миші, щура, хом'яка, кроля або примата, що не є людиною, такого як мавпа) та константну ділянку людини. У наступному прикладі химерне антитіло - це антитіло з "перемкнутим класом", у якому клас або підклас було змінено з класу або підкласу початкового антитіла. Химерні антитіла включають їх антигензв'язувальні фрагменти.

У певних варіантах здійснення химерне антитіло - це гуманізоване антитіло. Зазвичай, антитіло не людини гуманізується, щоб знизити імуногенність стосовно людей, при цьому зберігається специфічність та афінність початкового антитіла не людини. Взагалі, гуманізоване антитіло включає один або більше варіабельних доменів, у яких HVR, наприклад CDR, (або їх частини) походять від антитіла не людини, а FR (або їх частини) походять від послідовностей антитіла людини. Гуманізоване антитіло доволно також включатиме принаймні частину константної ділянки людини. У деяких варіантах здійснення деякі залишки FR у гуманізованому антитілі замінені відповідними залишками від антитіла не людини (наприклад, антитіла, від якого походять залишки HVR), наприклад, щоб зберегти або покращити специфічність або афінність антитіла.

Огляд гуманізованих антитіл та способів їх отримання зроблений, наприклад, у [Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)], та вони далі описуються, наприклад, у [Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989); патентах США №№ 5, 821,337, 7,527,791, 6,982,321 та 7,087,409; Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (де описується трансплантація ділянки, що визначає специфічність (SDR)); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (де описується "змінювання поверхні" ("resurfacing")); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) (де описується "перестановка FR" ("FR shuffling")); та Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) та Klimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (де описується підхід "керованої селекції" ("guided selection") до перестановки FR)].

Каркасні ділянки людини, які можна застосовувати для гуманізації, включають, проте не обмежуються ними: каркасні ділянки, вибрані за допомогою способу "найкращої відповідності" ("best-fit") [дивись, наприклад, Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)]; каркасні ділянки, що походять від консенсусної послідовності особливої підгрупи варіабельних ділянок легкого або важкого ланцюгів антитіл людини [дивись, наприклад, Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA,

89:4285 (1992); та Presta et al. *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)]; зрілі (соматично мутовані) каркасні ділянки людини або зародкові каркасні ділянки людини [дивись, наприклад, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13:1619-1633 (2008)]; та каркасні ділянки, що походять з бібліотек скринінгу FR [дивись, наприклад, Vasa et al., *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684 (1997) та Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618 (1996)].

4. Антитіла людини

У певних варіантах здійснення антитіло, що пропонується у цьому описі, - це антитіло людини. Антитіла людини можна отримати, застосовуючи різноманітні відомі у галузі способи. Антитіла людини описуються взагалі у [van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74 (2001) та Lonberg, *Curr. Opin. Immunol.* 20:450-459 (2008)].

Антитіла людини можна отримати шляхом введення імуногену трансгенній тварині, яку модифікували для отримання інтактних антитіл людини або інтактних антитіл з варіабельними ділянками людини, у відповідь на антигенну стимуляцію. Такі тварини зазвичай містять усі або частину локусів імуноглобуліну людини, які замінюють ендегенні локуси імуноглобуліну або які присутні зовні хромосом або інтегровані випадково у хромосоми тварин. У таких трансгенних мишей ендегенні локуси імуноглобуліну зазвичай є інактивованими. Для огляду способів отримання антитіл людини від трансгенних тварин дивись [Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125 (2005)]. Дивись також, наприклад, [патенти США № 6,075,181 та 6,150,584, де описується технологія XENOMOUSE™; патент США № 5,770,429, де описується технологія HuMAb (зареєстрована торговельна марка); патент США № 7,041,870, де описується технологія K-M MOUSE (зареєстрована торговельна марка), та публікація патентної заявки США № US 2007/0061900], де описується технологія VELOCIMOUSE (зареєстрована торговельна марка). Варіабельні ділянки людини від інтактних антитіл, генерованих такими тваринами, можна далі модифікувати, наприклад, шляхом поєднання з відмінною константною ділянкою людини.

Антитіла людини можна також отримати за способами на основі гібридом. Описано клітинні лінії мієломи людини та гетеромієломи миші-людини для отримання моноклональних антитіл. [Дивись, наприклад, Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001 (1984); Brodeur et al., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); та Boerner et al., *J. Immunol.*, 147: 86 (1991).] Антитіла людини, отримані за допомогою гібридомної технології В-клітин людини, також [описано у Li et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103:3557-3562 (2006)]. Додаткові способи включають способи, описані, наприклад, у [патенті США № 7,189,826 (де описується виробництво моноклональних антитіл IgM людини лініями гібридомних клітин) та Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006) (де описуються гібридами людини-людини). Технологія з використанням гібридами людини (третинна технологія) також описується у Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005) та Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91 (2005)].

Антитіла людини можна також отримати шляхом виділення послідовностей варіабельного домену клону Fv, вибраних з похідних від людини фаг-дисплейних бібліотек. Такі послідовності варіабельного домену можна потім комбінувати з бажаним константним доменом людини. Способи вибору антитіл людини з бібліотек антитіл описуються нижче.

5. Антитіла, що походять з бібліотек

Антитіла цього винаходу можна виділити за допомогою скринінгу комбінаторних бібліотек щодо антитіл з бажаною активністю або типами активності. Наприклад, у цій галузі відомі різноманітні способи генерування фаг-дисплейних бібліотек та скринінгу таких бібліотек стосовно антитіл, яким притаманні бажані характеристики зв'язування. Огляд таких способів наведено, наприклад, у Hoogenboom et al. в *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 [O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001], та вони далі описані, наприклад, у [McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, в *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); та Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004)].

У певних способах фагового дисплея репертуари генів VH та VL окремо клонуються шляхом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) та рекомбінуються випадково у фагові бібліотеки, які потім можна піддати скринінгу стосовно антигензв'язувального фага, як описано у [Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)]. Фаг зазвичай відображає фрагменти антитіла або як одноланцюгові фрагменти Fv (scFv), або як фрагменти Fab. Бібліотеки від імунізованих джерел пропонують високоафінні антитіла до імуногена без необхідності будування гібридом. Альтернативно, інтактний репертуар можна клонувати (наприклад, від людини), щоб отримати єдине джерело антитіл до широкого ряду невластних антигенів та також власних антигенів без

будь-якої імунізації, як [описано співавторами Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993)]. Зрештою, інтактні бібліотеки можна також отримати за допомогою синтезу шляхом клонування неперебудованих сегментів V-гена зі стовбурових клітин та застосовуючи праймери ПЛР, які містять випадкову послідовність, щоб кодувати надзвичайно варіабельні ділянки CDR3 та виконати перебудову *in vitro*, як описано співавторами [Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)]. Патентні публікації, які описують фагові бібліотеки антитіл людини, включають, наприклад: [патент США № 5,750,373 та патентні публікації США №№ 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 та 2009/0002360].

Антитіла або фрагменти антитіл, виділені з бібліотек антитіл людини, вважають у цьому описі антитілами людини або фрагментами антитіл людини.

6. Мультиспецифічне антитіло

У контексті цього винаходу термін "мультиспецифічне антитіло" означає антитіло, яке може специфічно зв'язуватися з відмінними типами епітопів. Конкретніше, мультиспецифічні антитіла – це антитіла, які мають специфічність до щонайменше двох відмінних типів епітопів, та, на додаток до антитіл, які розпізнають відмінні антигени, також включаються антитіла, які розпізнають відмінні епітопи на одному й тому ж антигені. (Наприклад, коли антигени є гетерологічними рецепторами, тоді мультиспецифічні антитіла зв'язуються з різними доменами, які складають гетерологічні рецептори; альтернативно, коли антигени – це мономери, тоді мультиспецифічні антитіла зв'язуються з багатьма ділянками на мономерних антигенах). Зазвичай, такі молекули зв'язуються з двома антигенами (біспецифічні антитіла), проте вони можуть навіть мати специфічність до більшої кількості антигенів (наприклад, трьох типів). У специфічних варіантах здійснення один з антигенів – це FIX та/або FIXa, а інший – це FX. Біспецифічне антитіло можна отримати як повне антитіло або як фрагмент антитіла.

Способи отримання мультиспецифічних антитіл включають, проте не обмежуються ними, рекомбінантну спільну експресію двох пар важкого ланцюга – легкого ланцюга імуноглобуліну, які мають відмінні специфічності [дивись Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)], WO 93/08829 та Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)], та технологію "виступ у западину" ("knob-in-hole") [дивись, наприклад, патент США № 5,731,168]. Мультиспецифічні антитіла можна також отримати шляхом створення ефектів електростатичного регулювання для отримання гетеродимерних молекул Fc антитіла (WO 2009/089004A1); перехресного зшивання двох або більше антитіл або фрагментів [дивись, наприклад, патент США № 4,676,980 та Brennan et al., Science, 229: 81 (1985)]; шляхом застосування лейцинової "застібки-блискавки" для отримання біспецифічних антитіл [дивись, наприклад, Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)]; шляхом застосування технології "діатіла" для отримання фрагментів біспецифічних антитіл [дивись, наприклад, Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)]; та шляхом застосування одноланцюгових димерів Fv (scFv) [дивись, наприклад, Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)]; та шляхом отримання триспецифічних антитіл, як описано, наприклад, у [Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)].

Побудовані антитіла з трьома або більше функціональними антигензв'язувальними ділянками, включаючи "антитіла-восьминоги", також включені у цей опис [дивись, наприклад, US 2006/0025576A1].

7. Варіанти антитіл

У певних варіантах здійснення передбачаються варіанти амінокислотних послідовностей антитіл, запропонованих у цьому описі винаходу. Наприклад, може бути бажаним покращити афінність зв'язування та/або інші біологічні властивості антитіла. Варіанти амінокислотних послідовностей антитіла можна отримати шляхом введення відповідних модифікацій у нуклеотидну послідовність, що кодує антитіло, або шляхом пептидного синтезу. Такі модифікації включають, наприклад, делецію залишків з амінокислотних послідовностей антитіла та/або вставку залишків в них, та/або заміну залишків в амінокислотних послідовностях антитіла. Можна здійснювати будь-яку комбінацію делеції, вставки та заміни, щоб отримати кінцеву конструкцію, за умови, що кінцева конструкція має бажані характеристики, наприклад, зв'язування з антигеном.

а) Варіанти заміни, вставки та делеції

У певних варіантах здійснення пропонуються варіанти антитіл, які мають одну або більше амінокислотних заміни. Ділянки, які представляють інтерес для замісного мутагенезу, включають HVR та FR. Консервативні заміни наведено у таблиці 1 під заголовком "переважні заміни". Суттєвіші зміни наведено у таблиці 1 під заголовком "приклади замін", та, як описано нижче, з посиланням на класи амінокислотних бічних ланцюгів. Амінокислотні заміни можна робити в антитілі, що представляє інтерес, та виконати скринінг продуктів з бажаною активністю,

наприклад, збереженим/покращеним зв'язуванням з антигеном, зниженою імуногенністю або покращеними ADCC або CDC.

Таблиця 1

Початковий залишок	Приклади замін	Переважні заміни
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn(N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln(Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly(G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleucine	Leu
Leu (L)	Норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser(S)	Thr	Thr
Thr- (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val(V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleucine	Leu

5 Амінокислоти можна згрупувати згідно зі спільними властивостями бічного ланцюга:

- (1) гідрофобні: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) нейтральні гідрофільні: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) кислотні: Asp, Glu;
- (4) основні: His, Lys, Arg;

10 (5) залишки, що впливають на орієнтацію ланцюга: Gly, Pro;
 (6) ароматичні: Trp, Tyr, Phe.

Неконсервативні заміни спричинятимуть обмін члена одного з цих класів на інший клас.

Один тип замісного варіанта спричиняє заміну одного або більше залишків гіперваріабельної ділянки початкового антитіла (наприклад, гуманізованого антитіла або антитіла людини). Взагалі, отриманий (отримані) варіант (варіанти) для подальшого дослідження матиме (матимуть) модифікації (наприклад, покращення) певних біологічних властивостей (наприклад, підвищену афінність, знижену імуногенність) відносно початкового антитіла та/або матиме (матимуть) по суті збережені певні біологічні властивості початкового антитіла. Прикладом замісного варіанта є антитіло зі зрілою афінністю, яке можна отримати за традиційним способом, наприклад, застосовуючи способи визрівання афінності на основі фагового дисплея, такі як описано у цьому описі. Стисло кажучи, один або більше залишків HVR піддають мутації, та варіанти антитіл відображаються на фагу та піддаються скринінгу щодо певної біологічної активності (наприклад, афінності зв'язування).

Зміни (наприклад, заміни) можна здійснювати у HVR, наприклад, щоб покращити афінність антитіла. Такі зміни можна робити у "гарячих точках" ("hotspots") HVR, тобто залишках, що кодуються кодонами, які зазнають мутації з високою частотою під час процесу соматичного визрівання [дивись, наприклад, Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008)], та/або залишках, які контактують з антигеном, при цьому отриманий варіант VH або VL тестують стосовно афінності зв'язування. Визрівання афінності внаслідок побудови та повторного вибору з вторинних бібліотек описано, наприклад, у [Hoogenboom et al. в Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001).)] У деяких варіантах здійснення визрівання афінності вводиться різноманіття у варіабельні гени, вибрані для визрівання, будь-яким з різноманітних способів (наприклад, ПЛР з помилками, перестановка ланцюгів або олігонуклеотид-спрямований мутагенез). Потім утворюють вторинну бібліотеку. Ця бібліотека потім піддається скринінгу з метою ідентифікувати будь-які варіанти антитіл з бажаною

афінністю. Інший спосіб введення різноманіття застосовує HVR-спрямовані підходи, при яких рандомізуються декілька залишків HVR (наприклад, 4-6 залишків за один раз). Залишки HVR, які залучаються у зв'язування з антигеном, можна специфічно ідентифікувати, наприклад, застосовуючи аланін-скануючий мутагенез або моделювання. Часто мішенню стають саме CDR-H3 та CDR-L3.

У певних варіантах здійснення заміни, вставки або делеції можуть виникати у межах однієї або більше HVR, доки такі зміни суттєво не знижують спроможність антитіла зв'язуватися з антигеном. Наприклад, у HVR можна здійснити консервативні зміни (наприклад, консервативні заміни, як пропонується у цьому описі), які по суті не знижують афінність зв'язування. Такі зміни можуть, наприклад, відбуватися зовні залишків у HVR, що контактують з антигеном. У певних варіантах здійснення варіантів послідовностей VH та VL, запропонованих вище, кожна HVR або залишається незмінною, або містить не більш ніж одну, дві або три амінокислотні заміни.

Корисний спосіб ідентифікації залишків або ділянок антитіла, які можуть бути мішенями для мутагенезу, називається "аланін-скануючий мутагенез", як описано у [Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085]. У цьому способі залишок або групу залишків-мішеней (наприклад, заряджені залишки, такі як arg, asp, his, lys та glu) ідентифікують та замінюють нейтральною або негативно зарядженою амінокислотою (наприклад, аланіном або поліаланіном) з метою визначення, чи відбувається вплив на взаємодію антитіла з антигеном. На амінокислотних локалізаціях можна робити подальші заміни, які демонструють функціональну чутливість до початкових замін. Альтернативно або додатково, кристалічну структуру комплексу антиген-антитіло можна проаналізувати з метою ідентифікувати точки контакту між антитілом та антигеном. Такі контактні залишки та сусідні залишки можуть бути мішенями або їх можна виключити як кандидатів для заміни. Варіанти можна піддати скринінгу, щоб визначити, чи мають вони бажані властивості.

Вставки амінокислотних послідовностей включають аміно- та/або карбоксил-кінцеві злиття, довжина яких має діапазон від одного залишку до поліпептидів, які містять сто або більше залишків, а також вставки усередині послідовностей єдиного або численних амінокислотних залишків. Приклади кінцевих вставок включають антитіло з N-кінцевим залишком-метіоніном. Інші варіанти вставок молекули антитіла включають злиття з ферментом (наприклад, для ADEPT) або поліпептидом, який подовжує період напіврозпаду антитіла у плазмі, з N- або C-кінцями антитіла.

b) Варіанти глікозилювання

У певних варіантах здійснення антитіло, що пропонується у цьому описі, змінюється для того, щоб підвищити або знизити ступінь, до якого антитіло глікозилюється. Додавання або делецію ділянок глікозилювання в антитілі можна традиційно здійснювати шляхом зміни амінокислотної послідовності, так щоб утворити або видалити одну або більше ділянок глікозилювання.

Там, де антитіло включає Fc-ділянку, приєднаний до неї вуглеводень можна змінювати. Нативні антитіла, що виробляються клітинами ссавців, зазвичай включають розгалужений біантенальний олігосахарид, який взагалі приєднаний за допомогою N-зв'язку до Asn297 домену CH2 Fc-ділянки. Дивись, наприклад, [Wright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)]. Олігосахарид може включати різноманітні вуглеводні, наприклад, манозу, N-ацетилглюкозамін (GlcNAc), галактозу та сіалову кислоту, а також фукозу, приєднану до GlcNAc у "стовбурі" біантенальної структури олігосахариду. У деяких варіантах здійснення модифікації олігосахариду в антитілі цього винаходу можна здійснити з метою утворення варіантів антитіла з певними покращеними властивостями.

c) Варіанти Fc-ділянки

У певних варіантах здійснення одну або більше амінокислотних модифікацій можна ввести в Fc-ділянку антитіла, що пропонується у цьому описі, тим самим генеруючи варіант Fc-ділянки. Варіант Fc-ділянки може включати послідовність Fc-ділянки людини (наприклад, Fc-ділянку IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4 людини), яка включає амінокислотну модифікацію (наприклад, заміну) на одній або більше амінокислотних позиціях.

У певних варіантах здійснення цей винахід передбачає варіант антитіла, якому притаманні деякі, але не усі ефекторні функції, які роблять його бажаним кандидатом для випадків застосування, при яких період напіврозпаду антитіла *in vivo* є важливим, втім певні ефекторні функції (такі як комплементзалежна та антитілозалежна клітинна цитотоксичність) не є необхідними або є шкідливими. Аналізи цитотоксичності *in vitro* та/або *in vivo* можна здійснити, щоб переконатися у зниженні/припиненні активності CDC та/або ADCC. Наприклад, аналізи зв'язування Fc-рецептора (FcR) можна здійснити, щоб переконатися, що антитілу бракує зв'язування з Fc гамма R (як наслідок, ймовірно бракує активності ADCC), проте воно зберігає

спроможність зв'язуватися з FcRn. Первинні клітини для опосередкування ADCC, NK-клітини, експресують тільки Fc гамма RIII, у той час як моноцити експресують Fc гамма RI, Fc гамма RII та Fc гамма RIII. Експресія FcR на кровотворних клітинах підсумовується у таблиці 3 та на сторінці 464 публікації [Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)].

Необмежувальні приклади аналізів *in vitro* для оцінки активності ADCC молекули, що представляє інтерес, описані у [патенті США № 5,500,361 (дивись, наприклад, Hellstrom, I. et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)) та Hellstrom, I et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (дивись Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))]. Альтернативно, способи нерадіоактивних аналізів можна застосовувати (дивись, наприклад, нерадіоактивний аналіз цитотоксичності ACT1™ для потокової цитометрії [CellTechnology, Inc. Mountain View, CA] та нерадіоактивний аналіз цитотоксичності CytoTox 96 (zareєстрована торговельна марка) (Promega, Madison, WI)). Корисні ефекторні клітини для таких аналізів включають мононуклеари периферійної крові (PBMC) та природні клітини-кілери (NK). Альтернативно або додатково, активність ADCC молекули, що представляє інтерес, можна оцінити *in vivo*, наприклад, на тваринній моделі, такий як [описано у Clynes et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)]. Можна також здійснити аналіз зв'язування C1q, щоб переконатися, що антитіло неспроможне зв'язуватися з C1q, та, отже, йому бракує активності CDC. Дивись, наприклад, ЕЛАЙЗА зв'язування C1q та C3c у [WO 2006/029879 та WO 2005/100402]. Для того, щоб оцінити активацію комплементу, можна здійснити аналіз CDC [дивись, наприклад, Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., *Blood* 101:1045-1052 (2003); та Cragg, M.S. and M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)]. Зв'язування FcRn та визначення кліренсу/періоду напіврозпаду *in vivo* можна також здійснити, застосовуючи відомі у цій галузі способи [дивись, наприклад, Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)].

Описані певні варіанти антитіл з підвищеним або зниженим зв'язуванням з FcRn. [Дивись, наприклад, патент США № 6,737,056; WO 2004/056312 та Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001).]

У US2005/0014934A1 (Hinton et al.) описуються антитіла з подовженим періодом напіврозпаду та підвищеним зв'язуванням з неонатальним рецептором Fc, який відповідає за перенос материнських IgG плоду [Guyer et al., *J. Immunol.* 117:587 (1976) та Kim et al., *J. Immunol.* 24:249 (1994)]. Ці антитіла включають Fc-ділянку з однією або більше замінами у ній, які підвищують зв'язування Fc-ділянки з FcRn. Такі варіанти Fc включають варіанти із замінами на одному або більше залишках Fc-ділянки: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 або 434, наприклад, заміна залишку 434 Fc-ділянки [патент США № 7,371,826].

Стосовно інших прикладів варіантів Fc-ділянки дивись також [Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); патент США 3 5,648,260; патент США № 5,624,821 та WO 94/29351].

d) Варіанти сконструйованих з цистеїном антитіл

У певних варіантах здійснення може бути бажаним створити сконструйовані з цистеїном антитіла, наприклад, "thioMAb", у яких один або більше залишків антитіла замінені цистеїновими залишками. В особливих варіантах здійснення замінені залишки виникають на доступних ділянках антитіла. Внаслідок заміни цих залишків цистеїном реактивні тіолові групи розташовуються на доступних ділянках антитіла, та їх можна застосовувати для кон'югування антитіла з іншими складовими, такими як складові, що є ліками, або складові, що є зв'язаними з лінкером ліками, щоб утворити імунний кон'югат, як описано далі у цьому описі. У певних варіантах здійснення будь-який один або більше з наступних залишків може бути замінений цистеїном: V205 (нумерація за Кабат) легкого ланцюга; A118 (нумерація EU) важкого ланцюга та S400 (нумерація EU) Fc-ділянки важкого ланцюга. Сконструйовані з цистеїном антитіла можна отримати, як описано, наприклад, у [патенті США № 7,521,541].

e) Похідні антитіл

У певних варіантах здійснення антитіло, що пропонується у цьому описі, можна також модифікувати так, щоб воно містило додаткові небілкові складові, які є відомими у цій галузі та легко доступними. Складові, придатні для дериватизації антитіла, включають, проте не обмежуються ними, водорозчинні полімери. Необмежувальні приклади водорозчинних полімерів включають, проте не обмежуються ними, поліетиленгліколь (ПЕГ), співполімери етиленгліколю/пропіленгліколю, карбоксиметилцелюлозу, декстран, полівініловий спирт, полівінілпіролідон, полі-1,3-діоксолан, полі-1,3,6-триоксан, співполімер етилену/малеїнового ангідриду, поліамінокислоти (або гомополімери, або випадкові співполімери) та декстран або полі(п-вінілпіролідон)поліетиленгліколь, гомополімери поліпропіленгліколю, співполімери оксиду поліпропілену/оксиду етилену, поліоксіетиловані поліоли (наприклад, гліцерин), полівініловий

спирт та їх суміші. Поліетиленгліколь-пропіональдегід може мати переваги у виробництві завдяки його стійкості у воді. Полімер може мати будь-яку молекулярну масу та може бути розгалуженим або нерозгалуженим. Кількість полімерів, приєднаних до антитіла, може варіюватися, та, якщо приєднаний більш ніж один полімер, вони можуть бути такими

5 однаковими або відмінними молекулами. Взагалі, кількість та/або тип полімерів, які застосовуються для дериватизації, можна визначити, враховуючи, проте не обмежуючись ними, особливі властивості або функції антитіла, які слід покращити, чи буде похідне антитіла застосовуватися під час лікування за визначеними умовами тощо.

В іншому варіанті здійснення пропонуються кон'югати антитіла та небілкової складової, які можна вибірково нагрівати, піддавши опромінюванню. В одному варіанті здійснення небілкова складова – це вуглецева нанотрубка [Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)]. Опромінювання може мати будь-яку довжину хвилі та воно включає, проте не обмежується ними, такі значення довжини хвилі, які не шкодять звичайним клітинам, але які нагрівають небілкову складову до температури, при якій клітини, які знаходяться біля небілкової

10 складової антитіла, гинуть.

В. Рекombінантні способи та композиції

Антитіла можна отримати, застосовуючи рекombінантні способи та композиції, наприклад, як описано у [патенті США № 4,816,567]. В одному варіанті здійснення пропонується виділена нуклеїнова кислота, що кодує мультиспецифічне антитіло, яке зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, як описано у цьому описі. Така нуклеїнова кислота може кодувати амінокислотну послідовність, яка включає VL, та/або амінокислотну послідовність, яка включає VH антитіла (наприклад, легкий та/або важкий ланцюги антитіла). У наступному варіанті здійснення пропонуються один або більше векторів (наприклад, векторів експресії), які містять таку нуклеїнову кислоту. У наступному варіанті здійснення пропонується клітина-хазяїн, яка містить таку нуклеїнову кислоту. В одному такому варіанті здійснення клітина-хазяїн містить (наприклад, була трансформована за допомогою): (1) вектор, який містить нуклеїнову кислоту, яка кодує амінокислотну послідовність, яка включає VL антитіла, та амінокислотну послідовність, яка включає VH антитіла; або (2) перший вектор, який містить нуклеїнову кислоту, яка кодує амінокислотну послідовність, яка включає VL антитіла, та другий вектор, який містить нуклеїнову кислоту, яка кодує амінокислотну послідовність, яка включає VH антитіла. В одному варіанті здійснення клітина-хазяїн є еукаріотичною, наприклад, клітиною яєчника китайського хом'ячка (CHO) або лімфоїдною клітиною (наприклад, клітиною Y0, NS0, Sp2/0). В одному варіанті здійснення пропонується спосіб отримання мультиспецифічного антитіла, яке зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, при цьому спосіб включає культивування клітини-хазяїна, яка містить нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіло, як запропоновано вище, в умовах, придатних для експресії мультиспецифічного антитіла, яке зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, та довільне отримання антитіла від клітини-хазяїна (або культурального середовища клітини-хазяїна).

20 25 30 35

Для рекombінантного виробництва мультиспецифічного антитіла, яке зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, нуклеїнову кислоту, яка кодує антитіло, наприклад, як описано вище, виділяють та вставляють в один або більше векторів для подальшого клонування та/або експресії у клітині-хазяїні. Таку нуклеїнову кислоту можна легко виділити та секвенувати, застосовуючи традиційні процедури (наприклад, застосовуючи олігонуклеотидні зонди, спроможні специфічно зв'язуватися з генами, які кодують важкий та легкий ланцюги антитіла).

40

Придатні клітини-хазяїни для клонування та експресії векторів, що кодують антитіло, включають прокаріотичні або еукаріотичні клітини, описані у цьому описі. Наприклад, антитіла можна отримати у бактеріях, зокрема коли глікозилювання та ефекторна функція Fc не є необхідними. Стосовно експресії фрагментів антитіл та поліпептидів у бактеріях дивись, наприклад, [патенти США №№ 5,648,237, 5,789,199 та 5,840,523]. [Дивись також Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254, де описана експресія фрагментів антитіла у E. coli.] Після експресії антитіло можна виділити з пасти бактеріальних клітин у розчинну фракцію, а потім далі очищувати.

45 50

Окрім прокаріотів, еукаріотні мікроби, такі як міцеліальні грибки або дріжджі є придатними хазяїнами для клонування або експресії векторів, що кодують антитіло, включаючи штами грибків та дріжджів, шляхи глікозилювання яких були гуманізовані, внаслідок чого отримують антитіло з частковою або повною схемою глікозилювання людини. Дивись [Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004), та Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)].

55

Придатні клітини-хазяїни для експресії глікозилюваного антитіла також походять від багатоклітинних організмів (безхребетних та хребетних). Приклади клітин безхребетних включають клітини рослин та комах. Було ідентифіковано багато штамів бакуловірусів, які

60

можна застосовувати у зв'язку з клітинами комах, особливо для трансфекції клітин *Spodoptera frugiperda*.

Культури рослинних клітин можна також застосовувати як хазяїнів. Дивись, наприклад, [патенти США №№ 5,959,177, 6,040,498, 6,420,548, 7,125,978 та 6,417,429 (де описана технологія PLANTIBODIES™ для отримання антитіл в трансгенних рослинах)].

Клітини хребетних можна також використовувати як хазяїнів. Наприклад, можна використовувати клітинні лінії ссавців, які адаптовано для зростання у суспензії. Інші приклади корисних ліній клітин-хазяїнів ссавців – це клітинна лінія нирки мавпи CV1, трансформована за допомогою SV40 (COS-7); лінія ембріональної нирки людини (293 або клітини 293, як описано, наприклад, у [Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)]); клітини нирки немовля хом'яка (BHK); клітини sertoli миші (клітини TM4, як описано, наприклад, у Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)); клітини нирки мавпи (CV1); клітини нирки африканської зеленої макаки (VERO-76); клітини карциноми шийки матки людини (HELA); клітини нирки собак (MDCK); клітини печінки щурів Буфало (BRL 3A); клітини легень людини (W138); клітини печінки людини (Hep G2); пухлина молочної залози миші (MMT 060562); клітини TRI, як описано, наприклад, у [Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)]; клітини MRC 5 та клітини FS4. Інші корисні лінії клітин-хазяїнів ссавців включають клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO), включаючи клітини DHFR- CHO [Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)]; та клітинні лінії мієломи, такі як Y0, NS0 та Sp2/0. Стосовно огляду певних ліній клітин-хазяїнів ссавців, придатних для отримання антитіл, дивись, наприклад, [Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)].

С. Аналізи

Мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX та які пропонуються у цьому описі, можна ідентифікувати, піддати скринінгу або характеризувати стосовно їх фізичних/хімічних властивостей та/або біологічної активності, застосовуючи різноманітні, відомі у цій галузі аналізи.

1. Аналіз зв'язування та інші аналізи

В одному аспекті антитіло винаходу тестують стосовно його активності зв'язуватися з антигеном, наприклад, за відомими способами, такими як ELISA, вестерн-блот тощо.

В іншому аспекті конкурентний аналіз можна застосовувати для ідентифікації антитіла, яке конкурує з будь-яким антитілом з мультиспецифічних антитіл, які зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX, описаними у цьому описі, за зв'язування з FIX та/або FIXa та FX. У певних варіантах здійснення таке конкуруюче антитіло зв'язується з таким самим епітопом (наприклад, лінійним або конформаційним епітопом), з яким зв'язується описане у цьому описі мультиспецифічне антитіло, яке зв'язується з FIX та/або FIXa та FX. Докладні приклади способів картування епітопу, з яким зв'язується антитіло, наведено у [Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," в Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)].

У прикладі конкурентного аналізу іммобілізовані FIX та/або FIXa та FX інкубуються у розчині, який включає перше мічене антитіло, яке зв'язується з FIX та/або FIXa та FX (наприклад, будь-яке описане у цьому описі антитіло), та друге немічене антитіло, яке випробовують стосовно його спроможності конкурувати з першим антитілом за зв'язування з FIX, FIXa або FX. Друге антитіло може бути присутнім у гібридній надосадовій рідині. Як контрольні, іммобілізовані FIX, FIXa або FX інкубують у розчині, який включає перше мічене антитіло, але не включає друге немічене антитіло. Після інкубування в умовах, які сприяють зв'язуванню першого антитіла з FIX, FIXa або FX, надлишок незв'язаного антитіла видаляють та вимірюють кількість міченого антитіла, асоційованого з іммобілізованими FIX, FIXa або FX. Якщо кількість міченого антитіла, асоційованого з іммобілізованими FIX, FIXa або FX, суттєво знижена у тестовому зразку відносно контрольного зразка, тоді це вказує на те, що друге антитіло конкурує з першим антитілом за зв'язування з FIX, FIXa або FX. Дивись [Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)].

2. Аналізи активності

В одному аспекті пропонуються аналізи для визначення біологічної активності мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX та має біологічну активність. Біологічна активність може включати, наприклад, активність сприяти генеруванню FXa. Також пропонуються мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули, які мають таку біологічну активність *in vivo* та/або *in vitro*.

У певних варіантах здійснення антитіло винаходу тестують стосовно такої біологічної активності. "Активність заміщувати кофакторну функцію FVIII" означає, наприклад, активність підвищувати поглинання у тесті реакції активації FX за допомогою FIXa, застосовуючи спосіб колориметричного кількісного аналізу, та активність збільшувати кількість утвореного тромбіну,

що підраховується у тесті тромбіноутворення із застосуванням сироватки гемофілії А.

Застосовуючи способи колориметричного кількісного аналізу можна оцінити активність заміщувати кофакторну функцію FVIII, конкретно - шляхом оцінювання її у системі вимірювання, яка включає мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу цього винаходу та, наприклад, синтетичний субстрат S-2222 (синтетичний субстрат FIXa) FIXa, FX, та фосфоліпід. Наприклад, вимірювання можна виконувати за наступним способом. Усі реакції виконуються при кімнатній температурі. 5 мкл розчину антитіла, розведеного фізіологічним розчином з Tris-буфером, який містить 0,1% альбуміну бичачої сироватки (далі у цьому описі позначається як TBSB), змішують з 5 мкл фактора IXa бета людини з концентрацією 150 нг/мл (Enzyme Research Laboratories), та цю суміш інкубують у планшеті з 384 лунками протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Ферментативну реакцію у цій суміші ініціюють шляхом додавання 5 мкл фактора X людини з концентрацією 24,7 мкг/мл (Enzyme Research Laboratories), та через чотири хвилини реакцію припиняють шляхом додавання 5 мкл 0,5 М EDTA (ЕДТК). Хромогенну реакцію ініціюють шляхом додавання 5 мкл розчину хромогенного субстрату. Після 30 хвилин хромогенної реакції вимірюють зміну поглинання при 405 нм із застосуванням SpectroMax 340PC384 (Molecular Devices). Розчинник фактора IXa бета людини та фактора X людини – це TBSB, що містить 4,0 мкМ фосфоліпідний розчин (SYSMEX CO.) та 1,5 мМ CaCl₂. S-2222 (SEKISUI MEDICAL), який розчиняють в очищеній воді, щоб отримати розчин хромогенного субстрату при 1,47 мг/мл, та це застосовують у цьому аналізі. Ця система вимірювання демонструє кореляцію із суворістю хвороби та клінічним симптомом у випадках гемофілії А [Rosen S, Andersson M, Blomback M et al. Clinical applications of a chromogenic substrate method for determination of FVIII activity. Thromb Haemost 1985; 54: 811-23].

Застосовуючи тест тромбіноутворення, активність заміщувати кофакторну функцію FVIII можна оцінити, специфічно, шляхом застосування системи вимірювання, яка включає мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу цього винаходу та, наприклад, плазму з дефіцитом FVIII, активований фактор коагуляції крові XI, фосфоліпід, Fluo-буфер та Fluo-субстрат (FluCa-Kit; синтетичний субстрат тромбіну). Наприклад, вимірювання можна виконувати за наступним способом. 8 мкл біспецифічного антитіла, розведеного TBSB, додають до 72 мкл плазми з дефіцитом FVIII (George King), та цю суміш інкубують протягом 30 хвилин або більше при кімнатній температурі. Після цього додають 20 мкл тригерного розчину, що містить 20 мкМ фосфоліпід та 5 нг/мл фактора XIa людини (Enzyme Research Laboratories). Потім ініціюють реакцію коагуляції шляхом додавання 20 мкл змішаного розчину Fluo-буферу та Fluo-субстрату FluCa-Kit (Thrombinoscope). Кількість утвореного тромбіну можна оцінити, застосовуючи вимірювання флюоресценції тромбіноутворення та систему аналізу (Thrombinoscope). Тест тромбіноутворення із застосуванням плазми гемофілії А показує загальну активність коагуляції у випадку гемофілії А та кореляцію з клінічним симптомом хвороби [Shima M, Matsumoto T & Ogiwara K. New assays for monitoring haemophilia treatment. Haemophilia 2008; 14: 83-92].

Термін "активність пригнічувати активацію FIX" означає зниження поглинання в реакції активації FIX за допомогою FIXa із застосуванням способу колориметричного кількісного аналізу. Конкретно здійснюється наступний спосіб. 5 мкл розчину антитіла, розведеного TBSB, змішують з 5 мкл фактора IX людини з концентрацією 3 одиниці/мл [Christmassin M, Japan Blood Products Organization], та цю суміш інкубують у планшеті з 384 лунками протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Ферментативну реакцію у цій суміші розпочинають шляхом додавання 5 мкл фактора XIa людини з концентрацією 90 нг/мл (Enzyme Research Laboratories), та через 60 хвилин реакцію припиняють шляхом додавання 5 мкл 0,5 М EDTA (ЕДТК). Хромогенну реакцію ініціюють шляхом додавання 10 мкл розчину хромогенного субстрату. Через 60 хвилин хромогенної реакції вимірюють зміну поглинання при 405 нм із застосуванням SpectroMax 340PC384 (Molecular Devices). Розчинник фактора IX людини та фактора XIa людини – це TBSB, що містить 6,0 мкМ фосфоліпідний розчин (SYSMEX CO.) та 1,5 мМ CaCl₂. Спектрозим FIXa (Sekisui Diagnostics), який розчиняють в очищеній воді, щоб отримати розчин хромогенного субстрату при 6,7 мМ, та це змішують з етиленгліколем у пропорції 5:8 та застосовують у цьому аналізі.

Посилаючись на [US 2014/0080153 (WO 2012/093704)], зв'язування антитіла з позаклітинним матриксом (ECM) можна оцінити за допомогою наступної процедури. Позаклітинний матрикс Phenol Red Free (вільний феноловий червоний) (BD Matrigel #6137013) розводять за допомогою TBS при 2 мг/мл та 5 мкл цього розчину додають краплями у центр кожної лунки охолодженого на льоді планшета для вимірювання за методом електрохемілюмінесценції (ЕХЛ (ECL)) (L15XB-6, MSD високий зв'язок). Потім це закупорюють плівкою для планшетів та залишають стояти протягом ночі при 4°C. Далі зразок антитіла розводять до 9 мкг/мл за допомогою ACES-T (20 мМ

ACES, 150 мМ NaCl, pH 7,4 або pH 5,8, з додаванням 0,01% Tween 20). Вторинне антитіло розводять до 2 мкг/мл за допомогою ECLDB (ACES з додаванням 0,1% BSA та 0,01% Tween 20). 25 мкл розчину антитіла додають до планшета з круглим дном, де 50 мкл ECLDB розподілено у кожну лунку аліквотами. Блокувальний буфер ЕХЛ (ECL) видаляють з планшета з
 5 ECM, який містить блокувальний буфер ECL, шляхом його нахилення та до планшета додають 50 мкл кожного розчину антитіла, згаданого вище. Потім, це збовтують протягом години при кімнатній температурі. Після видалення зразка шляхом нахилення додають до кожної лунки 50 мкл 0,25% глутеральдегіду (приготовлено з ACES-T) та залишають стояти протягом 10 хвилин при кімнатній температурі. Кожну лунку промивають тричі PBS-T (PBS з додаванням 0,05%
 10 Tween 20), та до кожної лунки додають 50 мкл вторинного антитіла, розведеного ECLDB до 1 мкг/мл, та це збовтують протягом години при кімнатній температурі без доступу світла. Потім 150 мкл буферу READ (MSD) додають до кожної лунки та детектують сигнал випромінювання світла сульфо-міткою, застосовуючи MESO SECTOR S600 [Meso Scale Discovery].

Г. Фармацевтичні склади

15 Фармацевтичні склади мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, як описано у цьому описі, отримують у формі ліофілізованих складів або водних розчинів шляхом змішування такої мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, яка має бажану ступінь чистоти, з одним або декількома довільними фармацевтично прийнятними носіями [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)].
 20 Фармацевтично прийнятні носії є зазвичай нетоксичними для реципієнта у дозах та концентраціях, що застосовуються, та вони включають, проте не обмежуються ними, буфери, такі як фосфат, цитрат та інші органічні кислоти; антиоксиданти, включаючи аскорбінову кислоту та метіонін; консерванти (такі як октадецилдиметилбензиламонію хлорид; гексаметонію хлорид; бензалконію хлорид; бензетонію хлорид; фенол; бутиловий або бензиловий спирт;
 25 алкілпарабени, такі як метил- або пропілпарабен; катехол; резорцин; циклогексан; 3-пентанол; та m-крезол); низькомолекулярні (менш ніж приблизно 10 залишків) поліпептиди; білки, такі як сироватковий альбумін, желатин або імуноглобуліни; гідрофільні полімери, такі як полівінілпіролідон; амінокислоти, такі як гліцин, глютамін, аспарагін, гістидин, аргінін або лізин; моносахариди, дисахариди та інші вуглеводні, включаючи глюкозу, манозу або декстрини;
 30 хелатори, такі як EDTA; цукри, такі як цукроза, маніт, трегалоза або сорбіт; протиіони, що утворюють солі, такі як натрій; комплекси металів (наприклад, комплекси Zn-білок) та/або неіонні поверхнево-активні речовини, такі як поліетиленгліколь (ПЕГ). Приклади фармацевтично прийнятних носіїв у цьому описі далі включають засоби диспергування лікарських засобів у інтерстиціальному просторі, такі як розчинні нейтрально-активні глікопротеїни гіалуронідази (sHASEGP), наприклад, розчинні глікопротеїни гіалуронідази PH-20 людини, такі як gHuPH20 (HYLENEX (zareestrovana torovельна марка), [Baxter International, Inc.]. Певні приклади sHASEGP та способи застосування, включаючи gHuPH20, описані у [патентних публікаціях США №№ 2005/0260186 та 2006/0104968]. В одному аспекті sHASEGP комбінується з одним або
 35 більше додатковими глікозамінгліканазами, такими як хондроїтинази.

40 Приклади ліофілізованих фармацевтичних складів антитіла описані у [патенті США № 6,267,958]. Водні фармацевтичні склади антитіла включають склади, [описані у патенті США № 6,171,586 та WO2006/044908], при цьому останні фармацевтичні склади включають гістидин-ацетатний буфер.

45 Фармацевтичний склад у цьому описі може також містити більш ніж один активний інгредієнт, якщо необхідно для особливого призначення, яке лікується, переважно активні інгредієнти з видами активності, які взаємно доповнюють одна одну та які шкідливо не впливають одна на одну. Наприклад, може бути бажаним далі включити FVIII, FVII, FIX, інгібітор TFPI, антитромбін, спрямований на siPHK, конкретніше, це Advate, Adynovate, Feiba, NovoSeven, NovoEight, N8-GP, N9-GP, Concizumab, Elocta та Fitusiran. Такі активні інгредієнти придатним
 50 чином присутні у комбінації у кількості, яка є ефективною для призначеної мети. FVIII, FVII та FIX можуть включати їх сполуки, одержані шляхом злиття з Fc, та їх сполуки, одержані шляхом злиття з ПЕГ.

Активні інгредієнти можуть бути включені у мікрокапсули, приготовлені, наприклад, за способами коацервації або шляхом полімеризації на границі фаз, наприклад, мікрокапсули з гідроксиметилцелюлози або желатинові мікрокапсули та мікрокапсули з полі-
 55 (метилметакрилату), відповідно, у колоїдні системи доставки ліків (наприклад, ліпосоми, альбумінові мікрокульки, мікроемulsії, наночастинки та нанокапсули) або у макроемulsії. Такі способи описано у [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)].

Можна приготувати препарати з уповільненим вивільненням. Придатні приклади препаратів
 60 з уповільненим вивільненням включають напівпроникні матриці з твердих гідрофобних

полімерів, які містять мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу, при цьому матриці мають форму профільованих частинок, наприклад, плівок або мікрокапсул.

Склади, призначені для введення *in vivo*, зазвичай є стерильними. Стерильності можна легко досягнути, наприклад, шляхом фільтрування крізь стерильні фільтраційні мембрани.

5 G. Терапевтичні способи та композиції

Будь-яку мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX та яка пропонується у цьому описі, можна застосовувати у терапевтичних способах.

В одному аспекті пропонується мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, для застосування як лікарський засіб. У наступних аспектах пропонується мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, для застосування під час лікування кровотечі, хвороби, що супроводжується кровотечею, або хвороби, спричиненої кровотечею. У певних варіантах здійснення пропонується мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, для застосування у способі лікування. У певних варіантах здійснення винаходом пропонується мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, для застосування у способі лікування індивідуума, який має кровотечу, хворобу, що супроводжується кровотечею, або хворобу, спричинену кровотечею, при цьому спосіб передбачає введення індивідууму ефективної кількості мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX. В одному такому варіанті здійснення спосіб також передбачає введення індивідууму ефективної кількості щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, наприклад, як описується нижче. У наступних варіантах здійснення винахід пропонує мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, для застосування у заміщенні кофакторної функції FVIII. У певних варіантах здійснення винаходом пропонується мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, для застосування у способі заміщення кофакторної функції FVIII у індивідуума, при цьому спосіб передбачає введення індивідууму ефективної кількості мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, для заміщення кофакторної функції FVIII. "Індивідуум" згідно з будь-яким вищезазначеним варіантом здійснення – це переважно людина. У цьому винаході "кровотеча, хвороба, що супроводжується кровотечею, або хвороба, спричинена кровотечею" - це переважно хвороба, яка виникає та/або прогресує внаслідок зниження або дефіциту активності FVIII та/або активованого фактора коагуляції крові VIII (FVIIIa). Така хвороба включає вищезгадану гемофілію А, гемофілію В, гемофілію С, хворобу з виникненням інгібітору проти FVIII/FVIIIa, набуту гемофілію та хворобу Вілебранда, проте хвороба не обмежується ними.

У наступному аспекті винаходом пропонується мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, для застосування у виробництві або приготуванні лікарського препарату. В одному варіанті здійснення лікарський препарат призначений для лікування кровотечі, хвороби, що супроводжується кровотечею, або хвороби, спричиненої кровотечею. У наступному варіанті здійснення лікарський препарат призначений для застосування у способі лікування кровотечі, хвороби, що супроводжується кровотечею, або хвороби, спричиненої кровотечею, при цьому спосіб передбачає введення індивідууму, який має кровотечу, хворобу, що супроводжується кровотечею, або хворобу, спричинену кровотечею, ефективної кількості лікарського препарату. В одному такому варіанті здійснення спосіб також передбачає введення індивідууму ефективної кількості щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, наприклад, як описано нижче. У наступному варіанті здійснення лікарський препарат призначений для заміщення кофакторної функції FVIII. У наступному варіанті здійснення лікарський препарат призначений для застосування у способі заміщення кофакторної функції FVIII у індивідуума, при цьому спосіб передбачає введення індивідууму ефективної кількості лікарського препарату для заміщення кофакторної функції FVIII. "Індивідуум" згідно з будь-яким вищезазначеним варіантом здійснення може бути людиною. У цьому винаході "кровотеча, хвороба, що супроводжується кровотечею, або хвороба, спричинена кровотечею" - це переважно хвороба, яка виникає та/або прогресує внаслідок зниження або дефіциту активності FVIII та/або FVIIIa. Така хвороба включає вищезгадану гемофілію А, гемофілію В, гемофілію С, хворобу з виникненням інгібітору проти FVIII/FVIIIa, набуту гемофілію та хворобу Вілебранда, проте хвороба не обмежується ними.

У наступному аспекті винаходом пропонується спосіб лікування кровотечі, хвороби, що супроводжується кровотечею, або хвороби, спричиненої кровотечею. В одному варіанті здійснення спосіб передбачає введення індивідууму, який має кровотечу, хворобу, що супроводжується кровотечею, або хворобу, спричинену кровотечею, ефективної кількості мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX. В

одному такому варіанті здійснення спосіб також передбачає введення індивідууму ефективної кількості щонайменше одного додаткового терапевтичного агента, як описується нижче. "Індивідуум" згідно з будь-яким вищезазначеним варіантом здійснення може бути людиною.

У наступному аспекті винаходом пропонується спосіб заміщення кофакторної функції FVIII у індивідуума. В одному варіанті здійснення спосіб передбачає введення індивідууму ефективної кількості мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, для заміщення кофакторної функції FVIII. В одному варіанті здійснення "індивідуум" - це людина.

У наступному аспекті винаходом пропонуються фармацевтичні складки, які містять мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX та яка пропонується у цьому описі, наприклад, для застосування у будь-якому вищеописаному способі лікування. В одному варіанті здійснення фармацевтичний склад містить будь-яку з мультиспецифічних антигензв'язувальних молекул, що зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX та які пропонується у цьому описі, та фармацевтично прийнятний носій. В іншому варіанті здійснення фармацевтичний склад містить будь-яку з мультиспецифічних антигензв'язувальних молекул, що зв'язуються з FIX та/або FIXa та FX та які пропонується у цьому описі, та щонайменше один додатковий терапевтичний агент, наприклад, як описується нижче.

Мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу цього винаходу можна застосовувати у терапії самостійно або у комбінації з іншими агентами. Наприклад, антитіло винаходу можна вводити разом з щонайменше одним додатковим терапевтичним агентом. У певних варіантах здійснення додатковий терапевтичний агент – це, наприклад, FVIII, FVII, FIX, інгібітор TFPI, антитромбін, спрямований на міРНК (siRNA); конкретніше, це Advate, Adynovate, Feiba, NovoSeven, NovoEight, N8-GP, N9-GP, Concizumab, Elocta та Fitusiran. FVIII, FVII та FIX можуть бути їх сполуками, одержаними шляхом злиття з Fc, та їх сполуками, одержаними шляхом злиття з ПЕГ.

Така вищезазначена комбінована терапія охоплює комбіноване введення (коли два або більше терапевтичних агентів включено в один і той же склад або в окремі фармацевтичні складки) та окреме введення, у випадку якого введення мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули винаходу може здійснюватися до початку, одночасно та/або після введення додаткового терапевтичного агента або агентів. В одному варіанті здійснення введення мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX, та введення додаткового терапевтичного агента здійснюють у межах приблизно одного місяця, двох місяців, трьох місяців, чотирьох місяців, п'яти місяців або шести місяців, або у межах приблизно одного, двох або трьох тижнів або у межах приблизно одного, двох, трьох, чотирьох, п'яти або шести днів одне від одного.

Мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу винаходу (та будь-який додатковий терапевтичний агент) можна вводити будь-яким придатним способом, включаючи парентеральне, внутрішньоперитонеальне та внутрішньоназальне введення, та, якщо є бажаним місцеве лікування, здійснюють введення усередину пошкодженої ділянки. Парентеральні інфузії включають внутрішньом'язове, внутрішньовенне введення, введення в артерію, внутрішньочеревне або підшкірне введення. Введення дози можна виконувати будь-яким придатним способом, наприклад, шляхом ін'єкцій, таких як внутрішньовенні або підшкірні ін'єкції, частково залежно від того, чи є введення короткочасним або тривалим. У цьому описі передбачаються різноманітні схеми дозування, включаючи, проте не обмежуючись ними, єдине або багаторазове введення на різних часових точках, болюсне введення та імпульсну інфузію.

Мультиспецифічні антигензв'язувальні молекули цього винаходу будуть виготовлятися у вигляді лікарського засобу, дозуватися та вводитися за способом, що узгоджується з гарною медичною практикою. Фактори, які слід враховувати у цьому контексті, включають певний розлад, який лікується, певного свавця, якого лікують, клінічний стан окремого пацієнта, причину розладу, ділянку доставки агента, спосіб введення, схеми введення та інші фактори, відомі практикуючим лікарям.

Мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу необов'язково, проте довільно, виготовляють у складі з одним або більше агентами, які на цей час використовуються для профілактики або лікування певного розладу. Ефективна кількість таких інших агентів залежить від кількості мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, присутньої у складі, типу розладу або лікування та інших факторів, що обговорюються вище. Вони взагалі застосовуються у тих самих дозах та вводяться такими самими способами, як описано у цьому описі, або вони приблизно становлять від 1 до 99% від доз, описаних у цьому описі, або застосовуються у будь-якій дозі та вводяться будь-яким способом, які емпірично/клінічно визначаються як відповідні.

Для профілактики або лікування хвороби відповідна доза мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули винаходу (коли застосовується самостійно або у комбінації з одним або більше додатковими терапевтичними агентами) залежатиме від типу хвороби, яку слід лікувати, типу мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, суворості та перебігу хвороби, а також від того, чи вводиться мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула з метою профілактики або лікування, попередньої терапії, клінічного анамнезу пацієнта та реакції на антитіло, та на розсуд лікаря, що лікує. Мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула придатним чином вводиться пацієнтові за один раз або протягом курсу лікування. Залежно від типу та суворості хвороби приблизно від 1 мкг/кг до 15 мг/кг (наприклад, 0,1 мг/кг – 10 мг/кг) мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули можуть бути початковою дозою-кандидатом для введення пацієнтові, або, наприклад, шляхом одного введення, або більшої кількості введень, або шляхом безперервної інфузії. Одна звичайна щоденна доза може становити діапазон від приблизно 1 мкг/кг до 100 мг/кг або більше, залежно від згаданих вище факторів. Для повторного введення протягом декількох днів або довше, залежно від стану, лікування взагалі буде підтримуватися, доки не виникне бажане пригнічення симптомів хвороби. Один приклад дози мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули становитиме діапазон від приблизно 0,05 мг/кг до приблизно 10 мг/кг. Отже, пацієнтові може вводитися одна або більше доз, які становлять приблизно 0,5 мг/кг, 2,0 мг/кг, 4,0 мг/кг або 10 мг/кг (або будь-яка їх комбінація). Такі дози можуть вводитися з проміжками, наприклад, кожного тижня або кожні три тижні (наприклад так, що пацієнт отримує від приблизно двох до приблизно двадцяти або, наприклад, приблизно шість доз мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули). Можна вводити початкову вищу навантажувальну дозу з наступним введенням однієї або більше нижчих доз. Однак, корисними можуть бути й інші схеми прийому. Прогрес цього лікування легко відстежується за допомогою традиційних способів та аналізів.

Зрозуміло, що будь-які з вищезгаданих фармацевтичних складів або терапевтичних способів можна виконувати, застосовуючи імунокон'югат цього винаходу замість або на додаток до мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, яка зв'язується з FIX та/або FIXa та FX.

Н. Промислові вироби

В іншому аспекті винаходу пропонується промисловий виріб, який містить матеріали, корисні для лікування, профілактики та/або діагностування розладів, описаних вище. Промисловий виріб включає контейнер та етикетку на упаковці або інструкцію з використання, пов'язану з контейнером. Придатні контейнери включають, наприклад, пляшки, ампули, шприци, мішки для внутрішньовенних розчинів тощо. Контейнери можуть бути виготовлені з різноманітних матеріалів, таких як скло або пластмаса. Контейнер містить композицію, яка є самостійною або яка скомбінована з іншою композицією, ефективною для лікування, профілактики та/або діагностування стану, та він може мати отвір для стерильного доступу (наприклад, контейнер може бути мішком для внутрішньовенного розчину або може бути пляшкою, яка має пробку, проникник для голки для підшкірної ін'єкції). Щонайменше один активний інгредієнт у композиції – це мультиспецифічна антигензв'язувальна молекула винаходу. Етикетка або інструкція з використання вказує, що композиція застосовується для лікування вибраного стану. Крім того, промисловий виріб може включати (а) перший контейнер з композицією, що міститься у ньому, де композиція містить мультиспецифічну антигензв'язувальну молекулу винаходу; та (б) другий контейнер з композицією, що міститься у ньому, де композиція містить додатковий цитотоксичний агент або терапевтичний агент іншої дії. Промисловий виріб у цьому варіанті здійснення винаходу може також включати інструкцію з використання, яка вказує, що композиції можна застосовувати для лікування певного стану. Альтернативно або додатково промисловий виріб може також включати другий (або третій) контейнер, який містить фармацевтично прийнятний буфер, такий як бактеріостатична вода для ін'єкції (BWF), сольовий розчин з фосфатним буфером, розчин Рінгера та розчин декстрази. Він може також включати інші матеріали, бажані з комерційної точки зору та з точки зору користувача, включаючи інші буфери, розріджувачі, фільтри, голки та шприци.

Інший варіант здійснення цього винаходу стосується мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, у якій асоціація важкого ланцюга та легкого ланцюга регулюється, способу виробництва мультиспецифічної антигензв'язувальної молекули, у якій асоціація важкого ланцюга та легкого ланцюга регулюється, та способу регулювання асоціації важкого ланцюга та легкого ланцюга в антигензв'язувальній молекулі.

Антигензв'язувальна молекула цього винаходу стосується антигензв'язувальної молекули, у якій асоціація важкого ланцюга та легкого ланцюга регулюється, у якій важкий ланцюг та легкий ланцюг, які складають антигензв'язувальну молекулу, - це комбінація важкого ланцюга та легкого ланцюга, які представляють інтерес, та у якій амінокислотні залишки на заданих місцях

у константній ділянці важкого ланцюга (CH1) та константній ділянці легкого ланцюга (CL) – це амінокислотні залишки, які взаємно електрично відштовхуються (мають однаковий заряд).

У цьому винаході, перетворюючи амінокислотні залишки у заданих локалізаціях у CH1 та CL небажаної комбінації важкого ланцюга та легкого ланцюга на амінокислотні залишки, які взаємно електрично відштовхуються (тобто, які мають однаковий заряд), можна запобігти утворенню небажаних комбінацій важкого ланцюга та легкого ланцюга, застосовуючи це відштовхування зарядів, та, як наслідок, можна створити бажану комбінацію важкого та легкого ланцюгів.

У цьому винаході фрази "регулювати асоціацію" та "асоціація регулюється" означають регулювання з метою досягти бажаної умови асоціації та конкретніше означають таке регулювання, щоб між важким ланцюгом та легким ланцюгом не утворювалися небажані асоціації.

У цьому винаході термін "границя контакту" зазвичай означає поверхню асоціації, яка є наслідком асоціації (взаємодії), та амінокислотні залишки, які утворюють границю контакту – це, зазвичай, один або більше амінокислотних залишків, включених у поліпептидні ділянки, які беруть участь в асоціації, та, переважніше, амінокислотні залишки, які наближаються один до одного під час асоціації та залучаються у взаємодію. Конкретніше ця взаємодія включає, наприклад, випадки, коли амінокислотні залишки зближуються під час асоціації, утворюючи один з одним водневі зв'язки, електростатичні взаємодії або сольові містки.

У цьому винаході фраза "амінокислотні залишки, що утворюють границю контакту" конкретніше означає амінокислотні залишки, включені у поліпептидну ділянку, яка утворює границю контакту. Наприклад, поліпептидні ділянки, які утворюють границю контакту, означають поліпептидні ділянки, що відповідають за селективне зв'язування між молекулами, такими як антигензв'язувальні молекули (наприклад, антитіла), ліганди, рецептори або субстрати. Конкретніше, в антигензв'язувальних молекулах такі приклади включають константні ділянки важкого ланцюга, варіабельні ділянки важкого ланцюга, константні ділянки легкого ланцюга та варіабельні ділянки легкого ланцюга.

"Модифікація" в амінокислотних залишках у цьому винаході специфічно означає заміну оригінального (оригінальних) амінокислотного (амінокислотних) залишку (залишків) іншим (іншими) амінокислотним (амінокислотними) залишком (залишками), делецію оригінального (оригінальних) амінокислотного (амінокислотних) залишку (залишків), додавання нового (нових) амінокислотного (амінокислотних) залишку (залишків) та їм подібне, проте переважно означає заміну одного або більше оригінальних амінокислотних залишків іншими амінокислотними залишками.

У переважному варіанті здійснення антигензв'язувальної молекули цього винаходу антигензв'язувальна молекула до початку регулювання асоціації має амінокислотні залишки у заданих локалізаціях у CH1 та CL небажаної комбінації важкого ланцюга та легкого ланцюга, які електрично відштовхуються (які мають однаковий заряд).

Внаслідок модифікування амінокислотних залишків у вищезгаданій антигензв'язувальній молекулі на амінокислотні залишки, які взаємно електрично відштовхуються (мають однаковий заряд), вважають, що асоціація цих амінокислотних залишків пригнічується силою відштовхування електричних зарядів.

Отже, у вищезгаданій антигензв'язувальній молекулі модифіковані амінокислотні залишки – це переважно амінокислотні залишки, які наближаються один до одного під час асоціації у поліпептидних ділянках, що утворюють границю контакту.

Амінокислотні залишки, які наближаються під час асоціації, можна визначити за допомогою, наприклад, аналізу тривимірної структури поліпептиду та досліджування амінокислотних послідовностей поліпептидних ділянок, які утворюють границю контакту під час асоціації поліпептидів. Амінокислотні залишки на границі контакту, які взаємно наближуються один до одного, є переважними мішенями для "модифікації" в антигензв'язувальній молекулі цього винаходу.

Відомо, що деякі амінокислоти мають електричний заряд. Взагалі відомо, що лізин (K), аргінін (R) та гістидин (H) – це амінокислоти, які мають позитивний заряд (позитивно заряджені амінокислоти). Відомо, що аспарагінова кислота (D), глютамінова кислота (E) та їм подібне – це амінокислоти, що мають негативний заряд (негативно заряджені амінокислоти). Крім того, відомо, що аланін (A), аспарагін (N), цистеїн (C), глютамін (Q), гліцин (G), ізолейцин (I), лейцин (L), метіонін (M), фенілаланін (F), пролін (P), серин (S), треонін (T), триптофан (W), тирозин (Y), валін (V) та їм подібне – це амінокислоти, які не мають заряду, або неполярні амінокислоти.

Отже, амінокислоти, які взаємно електрично відштовхуються (мають однаковий заряд), у цьому винаході означають:

(1) амінокислоти, у яких одна з амінокислот є позитивно зарядженою амінокислотою та інша амінокислота є також позитивно зарядженою амінокислотою, та

(2) амінокислоти, у яких одна з амінокислот є негативно зарядженою амінокислотою та інша амінокислота є також негативно зарядженою амінокислотою.

5 Амінокислоти можна модифікувати згідно з різноманітними способами, відомими у цій галузі. Приклади цих способів включають, проте не обмежуються ними, сайт-спрямований мутагенез [Hashimoto-Gotoh, T., Mizuno, T., Ogasahara, Y. and Nakagawa, M. (1995) An oligodeoxyribonucleotide-directed dual amber method for site-directed mutagenesis, *Gene* 152, 271-275; Zoller, M.J. and Smith, M. (1983) Oligonucleotide-directed mutagenesis of DNA fragments cloned into M13 vectors, *Methods Enzymol.* 100, 468-500; Kramer, W., Drutsa, V., Jansen, H.W., Kramer, B., Pflugfelder, M. and Fritz, H.J. (1984) The gapped duplex DNA approach to oligonucleotide-directed mutation construction, *Nucleic Acids Res.* 12, 9441-9456; Kramer, W. and Fritz, H.J. (1987) Oligonucleotide-directed construction of mutations via gapped duplex DNA, *Methods Enzymol.* 154, 350-367; Kunkel, T.A. (1985) Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, 488-492], мутагенез ПЛР, касетний мутагенез тощо.

20 Приклади амінокислотних модифікацій включають модифікацію незарядженої амінокислоти або неполярної амінокислоти на позитивно заряджену амінокислоту, модифікацію незарядженої амінокислоти або неполярної амінокислоти на негативно заряджену амінокислоту, модифікацію позитивно зарядженої амінокислоти на негативно заряджену амінокислоту та модифікацію негативно зарядженої амінокислоти на позитивно заряджену амінокислоту. Крім того, до амінокислотних модифікацій цього винаходу також включено модифікацію незарядженої амінокислоти або неполярної амінокислоти на іншу незаряджену амінокислоту або неполярну амінокислоту, модифікацію позитивно зарядженої амінокислоти на іншу позитивно заряджену амінокислоту та модифікацію негативно зарядженої амінокислоти на іншу негативно заряджену амінокислоту.

30 Модифікування амінокислот у цьому винаході включає здійснення однієї модифікації у кожному з важкого та легкого ланцюгів або здійснення численних модифікацій у кожному з важкого та легкого ланцюгів. Крім того, кількість модифікацій, що робляться у важкому ланцюзі та легкому ланцюзі, може бути однаковою або відмінною.

Модифікування амінокислот у цьому винаході включає здійснення численних модифікацій позитивно заряджених амінокислот або на важкому ланцюзі, або на легкому ланцюзі, та здійснення численних модифікацій негативно заряджених амінокислот на іншому ланцюзі. Крім того, можна здійснювати численні модифікації позитивно заряджених амінокислот, а також численні модифікації негативно заряджених амінокислот на одному й тому ж важкому ланцюзі або легкому ланцюзі. У цих модифікаціях можна також придатним чином комбінувати модифікації незаряджених амінокислот або неполярних амінокислот, а також модифікації незаряджених амінокислот або неполярних амінокислот.

40 У модифікаціях цього винаходу, наприклад, амінокислоти на одному з ланцюгів можна використовувати так, мовби вони не модифікуються, та у таких випадках необов'язково модифікувати і важкий ланцюг, і легкий ланцюг, та можна модифікувати лише один з ланцюгів.

45 Хоча не існує певних обмежень щодо кількості амінокислотних залишків, які піддаються модифікації в антигензв'язувальній молекулі цього винаходу, наприклад, коли модифікується константна ділянка антитіла, для того, щоб знизити зв'язувальну активність з антигеном та не підвищити імуногенність, переважно модифікувати настільки мало амінокислотних залишків, наскільки це можливо. Вищезгадане "мало" означає, наприклад, кількість від приблизно 1 до 30, переважно кількість від 1 до 20, навіть переважніше кількість від 1 до 15 та найпреважніше кількість від 1 до 5.

50 Константна ділянка легкого ланцюга антигензв'язувальної молекули цього винаходу – це переважно константна ділянка легкого ланцюга людини. Приклади константної ділянки легкого ланцюга включають константні ділянки типу IgK (каппа), IgL1, IgL2, IgL3, IgL6 та IgL7 (лямбда). Константна ділянка легкого ланцюга антигензв'язувальної молекули цього винаходу особливо не обмежується; коли застосовуються численні типи легких ланцюгів, тоді легкі ланцюги можуть бути легкими ланцюгами різних типів, наприклад, каппа та лямбда. Декілька послідовностей алотипів, отриманих внаслідок генетичного поліморфізму, описано у [Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH Publication No. 91-3242], як константна ділянка IgK (каппа) людини та константна ділянка IgL7 (лямбда) людини, та будь-які з них можна використовувати у цьому винаході.

60 Константні ділянки антитіла, зокрема, константні ділянки важкого ланцюга можна, за необхідності, модифікувати для того, щоб покращити функцію або стабільність

антигензв'язувальної молекули. Приклади модифікацій для покращення функції антигензв'язувальної молекули включають модифікації, які зміцнюють або ослаблюють зв'язування між антигензв'язувальною молекулою та рецептором Fcγ (FcγR), модифікації, які зміцнюють або ослаблюють зв'язування між антигензв'язувальною молекулою та FcRn, модифікації, які зміцнюють або ослаблюють цитотоксичну активність (таку як активність ADCC та активність CDC) антигензв'язувальної молекули, та їм подібні. Крім того, також можуть бути включені модифікації, які покращують гетерогенність антигензв'язувальної молекули, та модифікації, які покращують імуногенність та/або фармакокінетичні параметри.

Крім того, стосовно гетерогенності С-кінцевої послідовності важкого ланцюга антитіла IgG повідомлялося [Anal. Biochem. 2007 Jan 1;360(1):75-83] про амідування С-кінцевої карбоксильної групи шляхом делеції С-кінцевої амінокислоти, лізину, або шляхом делеції двох С-кінцевих амінокислот, гліцину та лізину.

Отже, у цьому винаході, для того, щоб знизити гетерогенність С-кінця важкого ланцюга, переважно застосовувати IgG, у якому стерто С-кінцевий лізин або С-кінцеві лізин та гліцин.

Оскільки їх антигенність в організмі людини була ослаблена, то очікують, що химерні та гуманізовані антитіла, які застосовують похідні від людини послідовності, будуть корисними при введенні людям для терапевтичних цілей або їм подібного.

Переважаючий приклад антигензв'язувальної молекули цього винаходу – це гетеромерний мультимер, що має два або більше типів CH1 та два або більше типів CL. Цей гетеромерний мультимер переважно зв'язується з двома або більше типами епітопів, та його приклад – це мультиспецифічне антитіло.

Переважаючий приклад мультиспецифічного антитіла цього винаходу – це біспецифічне антитіло. Отже, переважний варіант здійснення антигензв'язувальної молекули цього винаходу – це біспецифічне антитіло, що складається з двох типів важких ланцюгів (першого важкого ланцюга та другого важкого ланцюга) та двох типів легких ланцюгів (першого легкого ланцюга та другого легкого ланцюга).

У точнішому описі "біспецифічних антитіл" переважних варіантів здійснення антигензв'язувальних молекул цього винаходу вищезгаданий "перший важкий ланцюг" означає один з двох важких ланцюгів (H-ланцюгів), що утворюють антитіло, та "другий важкий ланцюг" означає інший H-ланцюг, що відрізняється від першого H-ланцюга. Тобто, з двох H-ланцюгів один з них можна довільно визначити як перший H-ланцюг, а інший можна визначити як другий H-ланцюг. Подібно до цього, "перший легкий ланцюг" означає один з двох легких ланцюгів (L-ланцюгів), що утворюють біспецифічне антитіло, та "другий L-ланцюг" означає відмінний від першого L-ланцюг. З двох L-ланцюгів один з них можна довільно визначити як перший L-ланцюг, а інший можна визначити як другий L-ланцюг. Зазвичай, перший L-ланцюг та перший H-ланцюг походять від одного й того ж антитіла, яке зв'язується з певним антигеном (або епітопом), та другий L-ланцюг та другий H-ланцюг також походять від одного й того ж антитіла, яке зв'язується з певним антигеном (або епітопом). У цьому описі пара L-ланцюг-H-ланцюг, утворена першими H-ланцюгом та L-ланцюгом, називається першою парою, а пара L-ланцюг-H-ланцюг, утворена другими H-ланцюгом та L-ланцюгом, називається другою парою. Антиген (або епітоп), що використовується для отримання антитіла, з якого походить друга пара, переважно відрізняється від антигену, який використовується для отримання антитіла, з якого походить перша пара. Конкретніше, антигени, що розпізнаються першою парою та другою парою, можуть бути одним і тим же антигеном, але переважно, щоб пари зв'язувалися з відмінними антигенами (або епітопами). У цьому випадку H-ланцюги та L-ланцюги першої пари та другої пари переважно мають амінокислотні послідовності, які відрізняються одна від одної. Коли перша пара та друга пара зв'язуються з різними епітопами, то перша пара та друга пара можуть розпізнавати повністю відмінний антиген, або вони можуть розпізнавати відмінні ділянки (відмінні епітопи) на одному й тому ж антигені. Крім того, одна з них може розпізнавати антиген, такий як білок, пептид, ген або цукор, а інша може розпізнавати цитотоксичні речовини, такі як радіоактивні речовини, хімотерапевтичні агенти або похідні від клітин токсини. Проте, коли бажають отримати антитіло, яке має пари, утворені специфічними комбінаціями H-ланцюгів та L-ланцюгів, тоді ці специфічні H-ланцюги та L-ланцюги можна довільно визначити, як першу пару та другу пару.

Докладніше пояснення наведено нижче щодо випадку біспецифічного антитіла типу IgG, яке має два типи константних ділянок важкого ланцюга CH1 (CH1-A та CH1-B) та два типи константних ділянок легкого ланцюга (CL-A та CL-B); проте цей винахід можна подібним чином застосовувати також і до інших антитіл.

Коли бажають отримати біспецифічне антитіло, яке розпізнаватиме один епітоп першою CH1-A та першою CL-A та зв'язуватиметься з іншим епітопом другою CH1-B та другою CL-B,

тоді теоретично існує ймовірність, що можна отримати 10 типів молекул антитіла, де кожен з чотирьох типів ланцюгів експресується для виробництва антитіла.

У цьому випадку бажані молекули антитіла можна переважно набути, якщо, наприклад, асоціація регулюється так, що асоціація CH1-A та CL-B та/або між CH1-B та CL-A пригнічується.

Приклад – це модифікування амінокислотних залишків, які утворюють границю контакту між CH1-A та CL-B, на позитивно заряджені амінокислотні залишки та модифікування амінокислотних залишків, які утворюють границю контакту між CH1-B та CL-A на негативно заряджені амінокислотні залишки. Внаслідок цих модифікацій пригнічується небажана асоціація між CH1-A та CL-B, оскільки амінокислотні залишки, які утворюють границю контакту, є обидва позитивно зарядженими, та асоціація між CH1-B та CL-A також пригнічується, оскільки амінокислотні залишки, які утворюють границю контакту, є обидва негативно зарядженими. Отже, небажана асоціація між CH1-A та CL-B та небажана асоціація між CH1-B та CL-A пригнічуються, оскільки амінокислотні залишки, які утворюють границі контакту, взаємно мають однаковий заряд. Як наслідок, можна ефективно набути антитіла, які мають бажану асоціацію між CH1-A та CL-A та бажану асоціацію між CH1-B та CL-B. Крім того, бажана асоціація між CH1-A та CL-A відбувається за сприятливих умов, оскільки амінокислотні залишки, що утворюють границю контакту, мають відміни один від одного типи зарядів; та бажана асоціація між CH1-B та CL-B також відбувається за сприятливих умов, оскільки амінокислотні залишки, що утворюють границю контакту, мають відміни один від одного типи зарядів. Отже, можна ефективно отримати антитіла з бажаною асоціацією.

Інший приклад – це модифікування амінокислотних залишків, що утворюють границю контакту між CH1-A та CL-B, на позитивно заряджені амінокислотні залишки, коли амінокислотні залишки, що утворюють границю контакту між CL-A та CH1-B є взаємно незарядженими або неполярними амінокислотними залишками. Як наслідок такої модифікації, небажана асоціація між CH1-A та CL-B пригнічується, оскільки амінокислотні залишки, що утворюють границю контакту є обидва позитивно зарядженими. З іншого боку, оскільки амінокислотні залишки, що утворюють границі контакту, - це амінокислоти, які взаємно електрично не відштовхуються, то бажана асоціація між CH1-A та CL-A та бажана асоціація між CH1-B та CL-B виникне легше, ніж у випадку, коли амінокислоти електрично відштовхуються. Отже, можна ефективно отримати антитіла, які мають бажану асоціацію між CH1-A та CL-A та бажану асоціацію між CH1-B та CL-B. Між тим, у цьому прикладі, у випадку, коли амінокислотні залишки, що утворюють границю контакту між CL-A та CH1-B, не є взаємно незарядженими або неполярними амінокислотами, їх можна модифікувати так, щоб вони стали взаємно незарядженими або неполярними амінокислотами.

Крім того, в іншому прикладі, коли амінокислотні залишки, що утворюють границю контакту між CL-B та CH1-B, є незарядженими або неполярними амінокислотами у CH1-B, тоді один з амінокислотних залишків, що утворює границю контакту між CH1-A та CL-A, модифікується на позитивно заряджений амінокислотний залишок, тоді як інший модифікується на негативно заряджений амінокислотний залишок; та амінокислотні залишки, що утворюють границю контакту між CL-B та CH1-B у CL-B, модифікуються так, щоб мати однаковий заряд, що і модифікація, здійснена для CH1-A. Як наслідок такої модифікації, у той час коли бажана асоціація між CH1-A та CL-A відбувається за сприятливих умов, оскільки амінокислотні залишки, що утворюють границю контакту, - це комбінація позитивного заряду та негативного заряду, бажана асоціація між CH1-B та CL-B не пригнічується, оскільки амінокислотні залишки, що утворюють границю контакту, - це амінокислоти, які взаємно електрично не відштовхуються. Як наслідок, можна ефективно отримати антитіло, яке має бажану асоціацію між CH1-A та CL-A та бажану асоціацію між CH1-B та CL-B. Між тим, у цьому прикладі, коли амінокислотні залишки, що утворюють границю контакту між CL-B та CH1-B, не є незарядженими або неполярними амінокислотами у CH1-B, їх можна модифікувати так, щоб вони стали незарядженими або неполярними амінокислотами.

Крім того, застосування регуляції асоціації цього винаходу робить можливим пригнічувати асоціацію між CH1 (CH1-A та CH1-B) або асоціацію між CL (CL-A та CL-B).

Фахівці у цій галузі зможуть придатним чином визначити типи амінокислотних залишків, які зближуються під час асоціації на границі контакту CH1 та CL у бажаному поліпептиді, для якого бажано здійснити регуляцію асоціації за допомогою цього винаходу.

Крім того, фахівці у цій галузі зможуть також придатним чином отримати послідовності, які можна застосовувати як CH1 або CL антитіла в організмі, такому як людина, мавпа, миша, кроль та їм подібне, застосовуючи публічну базу даних та їй подібне. Конкретніше, інформацію щодо амінокислотних послідовностей CH1 або CL можна отримати за допомогою засобів, описаних у прикладах, наведених нижче.

Наприклад, стосовно біспецифічних антитіл, описаних у прикладах нижче, специфічні приклади амінокислотних залишків, які зближуються (які зустрічаються або контактують) на границі контакту CH1 та CL після асоціації, включають комбінації, наведені нижче:

- глютамін (Q) на позиції 175 згідно з нумерацією EU у CH1 та зустрічний (контактуючий) треонін (T) або серин (S) на позиції 180 згідно з нумерацією за Кабат у CL;
- глютамін (Q) на позиції 175 згідно з нумерацією EU у CH1 та зустрічний (контактуючий) треонін (T) або серин (S) на позиції 131 згідно з нумерацією за Кабат у CL;
- глютамін (Q) на позиції 175 згідно з нумерацією EU у CH1 та зустрічний (контактуючий) серин (S) або треонін (T) на позиції 131 та серин (S) або треонін (T) на позиції 180 згідно з нумерацією за Кабат у CL; та
- лізин (K) на позиції 147 та глютамін (Q) на позиції 175 згідно з нумерацією EU у CH1 та зустрічний (контактуючий) серин (S) або треонін (T) на позиції 131 та серин (S) або треонін (T) на позиції 180 згідно з нумерацією за Кабат у CL.

Числа, наведені у нумерації EU у цьому винаході, вказані згідно з нумерацією EU [Sequences of proteins of immunological interest, NIH Publication No. 91-3242]. У цьому винаході фрази "амінокислотний залишок на позиції X згідно з нумерацією EU" та "амінокислота на позиції X згідно з нумерацією EU" (де X – це довільне число) можна також тлумачити як "амінокислотний залишок який відповідає позиції X згідно з нумерацією EU" та "амінокислота, яка відповідає позиції X згідно з нумерацією EU". Як вказується у прикладах, описаних нижче, бажані антигензв'язувальні молекули можна з перевагою набути шляхом модифікування цих амінокислотних залишків та шляхом здійснювання способів цього винаходу.

У варіанті здійснення цим винаходом пропонується антигензв'язувальна молекула, у якій регулюється асоціація важкого ланцюга та легкого ланцюга, де один, або два, або більше наборів амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається з наборів амінокислотних залишків, наведених від (a) до (c) нижче, у важкому ланцюгу та легкому ланцюгу антигензв'язувальної молекули – це амінокислотні залишки, які взаємно електрично відштовхуються:

(a) амінокислотний залишок, що міститься у CH1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, та амінокислотний залишок, що міститься у CL на позиції 180 згідно з нумерацією за Кабат;

(b) амінокислотний залишок, що міститься у CH1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, та амінокислотний залишок, що міститься у CL на позиції 131 згідно з нумерацією за Кабат; та

(c) амінокислотні залишки, що містяться у CH1 на позиціях 147 та 175 згідно з нумерацією EU, та амінокислотні залишки, що містяться у CL на позиціях 131 та 180 згідно з нумерацією за Кабат;

У вищезгаданій антигензв'язувальній молекулі "амінокислотні залишки, які взаємно електрично відштовхуються" або "амінокислотні залишки, що мають однаковий заряд" переважно вибрані з амінокислотних залишків, які містяться у, наприклад, або наборі (X), або наборі (Y) нижче:

(X) глютамінова кислота (E) або аспарагінова кислота (D); або

(Y) лізин (K), аргінін (R) або гістидин (H).

У вищезгаданій антигензв'язувальній молекулі специфічні приклади наборів амінокислотних залишків, які взаємно електрично відштовхуються, включають набори амінокислотних залишків, наведених нижче:

(a) амінокислотний залишок, що міститься в CH1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 180 згідно з нумерацією EU;

(b) амінокислотний залишок, що міститься в CH1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 131 згідно з нумерацією за Кабат;

(c) амінокислотні залишки, що містяться в CH1 на позиціях 147 і 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотні залишки, що містяться в CL на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією за Кабат;

(d) амінокислотний залишок, що міститься в CH1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотні залишки, що містяться в CL на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією за Кабат.

Цей винахід передбачає антигензв'язувальну молекулу, в якій один або два або більше наборів амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається з наборів амінокислотних залишків, наведених у від (a1) до (c2) нижче, у важкому ланцюзі і легкому ланцюзі антигензв'язувальної молекули являють собою амінокислотні залишки, які взаємно електрично відштовхуються:

(a1) амінокислотний залишок, що міститься в CH1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, який являє собою глютамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D), і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 180 згідно з нумерацією EU, який являє собою глютамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D);

(a2) амінокислотний залишок, що міститься в СН1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, який являє собою лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R), і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 180 згідно з нумерацією EU, який являє собою лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R);

5 (b1) амінокислотний залишок, що міститься в СН1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, який являє собою глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D), і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 131 згідно з нумерацією EU, який являє собою глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D);

10 (b2) амінокислотний залишок, що міститься в СН1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, який являє собою лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R), і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 131 згідно з нумерацією EU, який являє собою лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R);

15 (c1) амінокислотні залишки, що містяться в СН1 на позиціях 147 і 175 згідно з нумерацією EU, які являють собою, кожен, глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D), і амінокислотні залишки, що містяться в CL на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією EU, які являють собою, кожен, глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D);

20 (c2) амінокислотні залишки, що містяться в СН1 на позиціях 147 і 175 згідно з нумерацією EU, які являють собою, кожен, лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R), і амінокислотні залишки, що містяться в CL на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією EU, які являють собою, кожен, лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R).

У вищезгаданій антигензв'язувальній молекулі специфічні приклади амінокислотних залишків, які взаємно електрично відштовхуються, включають амінокислотні залишки, наведені нижче:

25 (a1) амінокислотний залишок, що міститься в СН1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, який являє собою глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D), і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 180 згідно з нумерацією EU, який являє собою глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D);

30 (a2) амінокислотний залишок, що міститься в СН1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, який являє собою лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R), і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 180 згідно з нумерацією EU, який являє собою лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R);

35 (b1) амінокислотний залишок, що міститься в СН1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, який являє собою глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D), і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 131 згідно з нумерацією EU, який являє собою глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D);

40 (b2) амінокислотний залишок, що міститься в СН1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, який являє собою лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R), і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 131 згідно з нумерацією EU, який являє собою лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R);

45 (c1) амінокислотні залишки, що містяться в СН1 на позиціях 147 і 175 згідно з нумерацією EU, які являють собою, кожен, глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D), і амінокислотні залишки, що містяться в CL на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією EU, які являють собою, кожен, глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D);

50 (c2) амінокислотні залишки, що містяться в СН1 на позиціях 147 і 175 згідно з нумерацією EU, які являють собою, кожен, лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R), і амінокислотні залишки, що містяться в CL на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією EU, які являють собою, кожен, лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R);

55 (d1) амінокислотний залишок, що міститься в СН1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, який являє собою глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D), і амінокислотні залишки, що містяться в CL на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією EU, які являють собою, кожен, глутамінову кислоту (E) або аспарагінову кислоту (D);

60 (d2) амінокислотний залишок, що міститься в СН1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, який являє собою лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R), і амінокислотні залишки, що містяться в CL на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією EU, які являють собою, кожен, лізин (K), гістидин (H) або аргінін (R).

На додаток до вказаного вище зазначимо, що спосіб пригнічення СН1/CL, який не пов'язаний з привнесенням відштовхування електричних зарядів на границі контакту між СН1 і CL (WO 2013/065708), може бути застосований до антигензв'язувальної молекули цього винаходу. Ще конкретніше, цей винахід передбачає антигензв'язувальну молекулу, що має СН1 і CL, де один або два або більше наборів амінокислотних залишків, вибраних з групи, що

складається з наборів амінокислотних залишків, наведених у від (а) до (d) нижче, взаємно електрично відштовхуються:

5 (а) амінокислотний залишок, що міститься в константній ділянці важкого ланцюга (CH1) на позиції 147 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок, що міститься в константній ділянці легкого ланцюга (CL) на позиції 180 згідно з нумерацією EU;

(b) амінокислотний залишок, що міститься в CH1 на позиції 147 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 131 згідно з нумерацією EU;

(c) амінокислотний залишок, що міститься в CH1 на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 160 згідно з нумерацією EU;

10 (d) амінокислотний залишок, що міститься в CH1 на позиції 213 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок, що міститься в CL на позиції 123 згідно з нумерацією EU.

Спосіб впровадження електричного відштовхування на границі контакту другої константної ділянки важкого ланцюга (CH2) або третьої константної ділянки важкого ланцюга (CH3) для пригнічення небажаної асоціації між важкими ланцюгами, спосіб впровадження електричного відштовхування на границі контакту варіабельної ділянки важкого ланцюга та варіабельної ділянки легкого ланцюга для пригнічення непередбаченої асоціації між важким ланцюгом та легким ланцюгом або спосіб модифікування амінокислотних залишків, які утворюють гідрофобне ядро, присутнє на границі контакту варіабельної ділянки важкого ланцюга та варіабельної ділянки легкого ланцюга, на полярні амінокислоти, які мають електричний заряд, для пригнічення непередбаченої асоціації між важким ланцюгом та легким ланцюгом, можна також застосовувати до антигензв'язувальних молекул цього винаходу (дивись WO 2006/106905).

У способі, який пригнічує непередбачену асоціацію між важкими ланцюгами шляхом впровадження електричного відштовхування на границі контакту CH2 або CH3, приклади амінокислотних залишків, які контактують на границі контакту інших константних ділянок важкого ланцюга, включають ділянки, що відповідають позиції 356 (нумерація EU) та позиції 439 (нумерація EU), позиції 357 (нумерація EU) та позиції 370 (нумерація EU), та позиції 399 (нумерація EU) та позиції 409 (нумерація EU) у ділянці CH3. Стосовно нумерації константних ділянок антитіл можна звернутися до публікації Kabat et al. (Kabat, E.A., et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH); та як нумерацію константних ділянок важкого ланцюга наведено нумерацію EU.

Конкретніше, наприклад, в антигензв'язувальній молекулі, яка містить два типи ділянок CH3 важкого ланцюга, від 1 до 3 наборів амінокислотних залишків у ділянці CH3 першого важкого ланцюга, які вибрані з наборів амінокислотних залишків від (1) до (3), наведених нижче, можна зробити так, щоб вони взаємно електрично відштовхувалися:

(1) амінокислотні залишки, що містяться у ділянці CH3 важкого ланцюга на позиції 356 та позиції 439 згідно з нумерацією EU;

(2) амінокислотні залишки, що містяться у ділянці CH3 важкого ланцюга на позиції 357 та позиції 370 згідно з нумерацією EU; та

40 (3) амінокислотні залишки, що містяться у ділянці CH3 важкого ланцюга на позиції 399 та позиції 409 згідно з нумерацією EU.

Крім того, антитіло може бути антитілом, яке має набір амінокислотних залишків у ділянці CH3 другого важкого ланцюга, відмінній від вищезгаданої ділянки CH3 першого важкого ланцюга, де набір амінокислотних залишків вибраний з наборів амінокислотних залишків, наведених у від (1) до (3) вище, та де від одного до трьох наборів амінокислотних залишків, які відповідають наборам амінокислотних залишків, наведених у від (1) до (3) вище, та які взаємно електрично відштовхуються у ділянці CH3 першого важкого ланцюга, не відштовхуються електрично від відповідних амінокислотних залишків у ділянці CH3 першого важкого ланцюга.

Амінокислотні залишки, описані у від (1) до (3) вище, наближаються один до одного після асоціації. Фахівці у цій галузі здатні визначити ділянки, що відповідають амінокислотним залишкам, описаним у від (1) до (3), згаданих вище, для бажаної ділянки CH3 важкого ланцюга або константної ділянки важкого ланцюга за допомогою моделювання гомології та йому подібного, застосовуючи комерційно доступне програмне забезпечення, та відповідним чином модифікувати амінокислотні залишки на тих ділянках.

55 У вищезгаданій антигензв'язувальній молекулі вирази "що відштовхуються електрично" або "що мають однаковий заряд" означають, що, наприклад, будь-які два або більше амінокислотних залишків мають амінокислотні залишки, які містяться або у групі (X), або у групі (Y), згаданих вище.

60 У переважному варіанті здійснення вищезгаданої антигензв'язувальної молекули ділянка CH3 першого важкого ланцюга та ділянка CH3 другого важкого ланцюга можуть бути

перехресно зшиті за допомогою дисульфідних зв'язків.

У цьому винаході амінокислотний залишок, що піддається "модифікації", не обмежується амінокислотним залишком варіабельної ділянки антигензв'язувальної молекули або константної ділянки антитіла, про які згадується вище. Фахівці у цій галузі здатні визначити амінокислотні залишки, які утворюють границю контакту у варіанті поліпептиду або гетеромерному мультимері, шляхом моделювання гомології та йому подібному, застосовуючи комерційно доступне програмне забезпечення, та модифікувати амінокислотні залишки на тих ділянках так, щоб регулювати асоціацію. Моделювання гомології – це спосіб передбачення тривимірної структури білка, застосовуючи комерційно доступне програмне забезпечення. Коли будують структуру білка з невідомою тривимірною структурою, спочатку шукають білок, про який визначено, що він має надзвичайно високогомологічну тривимірну структуру до білка. Потім, застосовуючи цю тривимірну структуру як матрицю, будують структуру білка з невідомою структурою, та цю структуру далі оптимізують за допомогою способів молекулярної динаміки та їм подібних, щоб передбачити тривимірну структуру невідомого білка.

У способі впровадження електричного відштовхування на границі контакту варіабельної ділянки важкого ланцюга та варіабельної ділянки легкого ланцюга для пригнічення небажаної асоціації важкого ланцюга та легкого ланцюга приклади амінокислотних залишків, які контактують на границі контакту варіабельної ділянки важкого ланцюга (VH) та варіабельної ділянки легкого ланцюга (VL), включають глютамін (Q) на позиції 39 згідно з нумерацією за Кабат у VH (ділянка FR2) та зустрічний (контактуючий) глютамін (Q) на позиції 38 згідно з нумерацією за Кабат у VL (ділянка FR2). Крім того, переважний приклад – це лейцин (L) на позиції 45 згідно з нумерацією за Кабат у VH (FR2) та зустрічний пролін (P) на позиції 44 згідно з нумерацією за Кабат у VL (FR2). Для нумерації цих ділянок посилалися на публікацію Kabat, et al. (Kabat, E.A., et al., 1991, Sequence of Proteins of Immunological Interest, NIH).

Оскільки відомо, що ці амінокислотні залишки є надзвичайно консервативними у людей та мишей (J. Mol. Recognit. 2003; 16: 113-120), асоціацію варіабельних ділянок антигензв'язувальних молекул можна регулювати для асоціації VH-VL антигензв'язувальних молекул, відмінних від молекул, вказаних у прикладах, шляхом модифікування амінокислотних залишків, що відповідають вищезгаданім амінокислотним залишкам.

Специфічний приклад – це антигензв'язувальна молекула, у якій два або більше амінокислотних залишків, що утворюють границю контакту VH та VL, - це амінокислотні залишки, які взаємно електрично відштовхуються. Конкретніше, приклади включають антигензв'язувальну молекулу з одним набором або двома наборами амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається з наборів амінокислотних залишків, наведених у (а) або (b) нижче:

(а) амінокислотний залишок, що міститься у VH на позиції 39 згідно з нумерацією за Кабат, та амінокислотний залишок, що міститься у VL на позиції 38 згідно з нумерацією за Кабат; або

(b) амінокислотний залишок, що міститься у VH на позиції 45 згідно з нумерацією за Кабат, та амінокислотний залишок, що міститься у VL на позиції 44 згідно з нумерацією за Кабат.

Кожен з амінокислотних залишків, описаних у вищезгаданих (а) або (b), наближається один до одного після асоціації. Фахівці у цій галузі зможуть визначити ділянки, які відповідають амінокислотним залишкам, описаним у вищезгаданих (а) або (b), у бажаних VH або VL, за допомогою моделювання гомології та йому подібного, застосовуючи комерційно доступне програмне забезпечення, та відповідним чином модифікувати амінокислотні залишки на тих ділянках.

У вищезгаданій антигензв'язувальній молекулі "амінокислотні залишки, які взаємно електрично відштовхуються" переважно вибрані з амінокислотних залишків, що містяться, наприклад, у наборі (X) або у наборі (Y) нижче:

(X) глютамінова кислота (E) або аспарагінова кислота (D) або

(Y) лізин (K), аргінін (R) або гістидин (H).

У способі модифікування амінокислотних залишків, які утворюють гідрофобне ядро, присутнє на границі контакту VH та VL, на полярні амінокислоти, які мають електричний заряд, для пригнічення непередбаченої асоціації важкого ланцюга та легкого ланцюга, переважні приклади амінокислотних залишків, які спроможні утворювати гідрофобне ядро на границі контакту VH та VL, включають лейцин (L) на позиції 45 згідно з нумерацією за Кабат у VH (FR2) та зустрічний пролін (P) на позиції 44 згідно з нумерацією за Кабат у VL (FR2). Для нумерації цих ділянок як посилення застосовувалася Kabat, et al. (Kabat, E.A., et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH).

Взагалі, термін "гідрофобне ядро" означає частину, яка утворюється внаслідок зборки бічних ланцюгів гідрофобних амінокислот усередині асоційованих поліпептидів. Приклади гідрофобних

амінокислот включають аланін, ізолейцин, лейцин, метіонін, фенілаланін, пролін, триптофан та валін. Крім того, амінокислотні залишки, відмінні від гідрофобних амінокислот (наприклад, тирозин), можуть залучатися до утворення гідрофобного ядра. Це гідрофобне ядро разом з гідрофільною поверхнею, у якій бічні ланцюги гідрофільних амінокислот розташовані назовні, стають рушійною силою для сприяння асоціації водорозчинних поліпептидів. Коли гідрофобні амінокислоти двох відмінних доменів присутні на молекулярній поверхні та зазнають впливу молекул води, ентропія підвищиться, та вільна енергія зросте. Отже, два домени асоціюватимуться один з одним, внаслідок чого знизиться вільна енергія, та вони стануть стабільними, та гідрофобні амінокислоти на границі контакту зануряться усередину молекули, утворюючи гідрофобне ядро.

Вважають, що, коли виникає поліпептидна асоціація, утворення гідрофобного ядра пригнічується внаслідок модифікування гідрофобних амінокислот, що утворюють гідрофобне ядро, на полярні амінокислоти, які мають електричний заряд; та, як наслідок, вважають, що поліпептидна асоціація пригнічується.

Фахівці у цій галузі зможуть розпізнати присутність або відсутність гідрофобного ядра, утворення сайту (ділянки) та їм подібного шляхом аналізу амінокислотних послідовностей стосовно бажаної антигензв'язувальної молекули. А саме, антигензв'язувальна молекула цього винаходу – це антигензв'язувальна молекула, яка характеризується тим, що амінокислотні залишки, спроможні утворювати гідрофобне ядро на границі контакту, модифіковані на амінокислотні залишки, які мають електричний заряд. Конкретніше, приклади включають антигензв'язувальну молекулу, у якій амінокислотні залишки, наведені або у (1), або у (2) нижче, є амінокислотними залишками, які мають електричний заряд. Бічні ланцюги амінокислотних залишків, наведених у (1) та (2) нижче, є прилеглими один до одного та можуть утворювати гідрофобне ядро:

(1) амінокислотний залишок, що міститься у VH на позиції 45 згідно з нумерацією за Кабат; та

(2) амінокислотний залишок, що міститься у VL на позиції 44 згідно з нумерацією за Кабат.

Переважають приклади амінокислотних залишків, які мають електричний заряд у вищезгаданій антигензв'язувальній молекулі, включають глютамінову кислоту (E), аспарагінову кислоту (D), лізин (K), аргінін (R) та гістидин (H). Переважніші приклади включають глютамінову кислоту (E) та лізин (K).

Взагалі, амінокислотні залишки, описані у вищезгаданих (1) та (2), у людей та мишей, це відповідно:

(1) лейцин (L) та

(2) пролін (P).

Отже, у переважному варіанті здійснення цього винаходу ці амінокислотні залишки піддають модифікації (такій як заміна амінокислотами, що мають електричний заряд). Крім того, типи вищезгаданих амінокислотних залишків (1) та (2) необов'язково обмежуються вищезгаданими амінокислотними залишками, але вони можуть також бути іншими амінокислотами, еквівалентними цим амінокислотним залишкам.

До антигензв'язувальних молекул цього винаходу можна застосовувати інші відомі способи. Наприклад, з метою сприяти асоціації першої VH (VH1) та першої VL (VL1) та/або другої VH (VH2) та другої VL (VL2), амінокислотний бічний ланцюг, який присутній у варіабельній ділянці одного з Н-ланцюгів, можна замінити більшим бічним ланцюгом (виступом), а амінокислотний бічний ланцюг, який присутній у протилежній варіабельній ділянці іншого Н-ланцюга, можна замінити меншим бічним ланцюгом (западиною), так щоб виступ міг влаштуватися у западині, що сприяє асоціації VH1 та VL1 та/або VH2 та VL2, а, як слідство, асоціацію VH1 та VL2 та/або VH2 та VL1 можна також пригнічувати [WO 1996/027011; Ridgway, J.B., et al., Protein Engineering (1996) 9, 617-621; Merchant, A.M., et al., Nature Biotechnology (1998) 16, 677-681].

Наприклад, у випадку IgG1 людини, для того, щоб зробити амінокислотний бічний ланцюг у ділянці CH3 одного Н-ланцюга більшим бічним ланцюгом (виступом), виконують модифікації Y349C та T366W, а для того, щоб зробити амінокислотний бічний ланцюг у ділянці CH3 іншого Н-ланцюга меншим бічним ланцюгом, виконують модифікації D356C, T336S, L368A та Y407V.

До антигензв'язувальних молекул цього винаходу можна застосовувати іще інші відомі способи. Цільову антигензв'язувальну молекулу можна ефективно отримати шляхом комплементарної асоціації CH3, застосовуючи сконструйований шляхом заміни ланцюга домен CH3, у якому частина CH3 одного Н-ланцюга антигензв'язувальної молекули замінюється послідовністю, що походить від IgA, що відповідає цій частині, та комплементарна частина CH3 іншого Н-ланцюга вводиться послідовністю, що походить від IgA, що відповідає цій частині [Protein Engineering Design & Selection, 23: 195-202, 2010].

До антигензв'язувальних молекул цього винаходу можна застосовувати іще інші відомі способи. Коли отримують біспецифічні антитіла, цільове біспецифічне антитіло можна отримати шляхом, наприклад, створення різниці в ізоелектричній точці, виконавши різні амінокислотні модифікації для кожної з варіабельних ділянок двох типів Н-ланцюгів, та застосування цієї різниці в ізоелектричній точці для очищення шляхом іонно-обмінної хроматографії (WO 2007/114325).

Спосіб модифікування амінокислотного залишку на позиції 435 згідно з нумерацією EU, що є сайтом, пов'язаним зі зв'язуванням між IgG та білком А, на амінокислоту, яка має відмінну силу зв'язування з білком А, таку як Arg, можна також застосовувати до антигензв'язувальної молекули цього винаходу у комбінації з вищезгаданими способами. Застосовуючи цей спосіб, можна змінити взаємодію між Н-ланцюгом та білком А, та тільки гетеродимерні антигензв'язувальні молекули можна ефективно очистити, застосовуючи колонку з білком А. Цей спосіб можна також застосовувати незалежно - без комбінування з вищезгаданими способами.

Модифікації цього винаходу можна застосовувати стосовно антигензв'язувальних молекул, таких як одна з нижчезазначених, наприклад, антигензв'язувальна молекула, яка має структуру, у якій, задля сприяння асоціації першої VH (VH1) та першої VL (VL1) та/або другої VH (VH2) та другої VL (VL2), VH1 зшивається з Fc-ділянкою через першу CH1, та VL1 зшивається з першою CL, та VH2 зшивається з іншою Fc-ділянкою через другу CL, та VL2 зшивається з другою CH1 (WO 09/80254).

Численні способи, наприклад, два або більше з вищезгаданих способів можна використовувати у комбінації для антигензв'язувальної молекули цього винаходу. Крім того, антигензв'язувальну молекулу цього винаходу можна отримати на основі антитіла, в якому були зроблені модифікації за вищезгаданими відомими способами.

Вказані нижче способи регулювання асоціації згідно з цим винаходом дозволяють, наприклад, ефективно отримувати антигензв'язувальні молекули, які є активними. Приклади такої активності включають зв'язувальну активність, нейтралізуючу активність, цитотоксичну активність, агоністичну активність, антагоністичну активність та ферментативну активність та їм подібну. Агоністична активність – це активність, яка індукує деякі види змін у фізіологічній активності внаслідок зв'язування антигензв'язувальної молекули з антигеном, таким як рецептор, що спричиняє сигнальну трансдукцію або їй подібне у клітинах. Приклади фізіологічної активності включають активність росту, активність виживання, активність диференціювання, транскрипційну активність, активність транспорту через мембрану, зв'язувальну активність, протеолітичну активність, активність фосфорилювання/дефосфорилювання, активність окиснення-відновлення, активність переносу, нуклеолітичну активність, активність дегідратації, активність, що викликає загибель клітин, та активність, що викликає апоптоз, та їм подібна, проте не обмежується ними.

Антигензв'язувальні молекули, що зв'язуються з бажаними антигенами або зв'язуються з бажаними рецепторами, можна ефективно отримати за допомогою способів цього винаходу.

Антигени цього винаходу особливо не обмежуються, та можна використовувати будь-який тип антигену. Приклади антигенів включають рецептори або їх фрагменти, ракові антигени, антигени МНС та диференціювальні антигени та їм подібне, проте особливо не обмежуються ними.

Приклади рецепторів цього винаходу включають рецептори, що належать до родини рецепторів кровотворних факторів, родини рецепторів цитокінів, родини рецепторів типу тирозинкінази, родини рецепторів серин/треонінкінази, родини рецепторів TNF, родини рецепторів, зчеплених з білком G, родини рецепторів з якірним GPI, родини рецепторів типу тирозинфосфатази, родини фактора адгезії, родини рецепторів гормонів та їм подібне. Повідомлення щодо рецепторів, які належать до цих родин рецепторів, та їх характеристики можна знайти у різноманітних джерелах, наприклад, у [Cooke BA., King RJB., van der Molen HJ. ed. New Comprehensive Biochemistry Vol.18B "Hormones and their Actions Part II" pp.1-46 (1988) Elsevier Science Publishers BV., New York, USA; Patthy L. (1990) Cell, 61: 13-14; Ullrich A., et al. (1990) Cell, 61: 203-212; Massagui J. (1992) Cell, 69: 1067-1070; Miyajima A., et al. (1992) Annu. Rev. Immunol., 10: 295-331; Taga T. and Kishimoto T. (1992) FASEB J., 7: 3387-3396; Fantl WJ., et al. (1993) Annu. Rev. Biochem., 62: 453-481; Smith CA., et al. (1994) Cell, 76: 959-962; Flower DR. (1999) Biochim. Biophys. Acta, 1422: 207-234; Miyasaka M. ed. Cell Technology, Handbook Series "Handbook for adhesion factors" (1994) Shujunsha, Tokyo, Japan; та їм подібних]. Приклади специфічних рецепторів, що належать до вищезгаданих родин рецепторів, включають рецептор еритропоєтину (EPO) людини або миші, рецептор стимулюючого фактора колонії гранулоцитів (G-CSF) людини або миші, рецептор тромбопоєтину (TPO) людини або миші, рецептор інсуліну

людини або миші, рецептор ліганду Flt-3 людини або миші, рецептор похідного від бляшок фактора росту (PDGF) людини або миші, рецептор інтерферону (IFN)- α або $-\beta$ людини або миші, рецептор лептину людини або миші, рецептор гормону росту (GH) людини або миші, рецептор інтерлейкіну (IL)-10 людини або миші, рецептор інсулін-подібного фактора росту (IGF)-I людини або миші, рецептор лейкоз-інгібувального фактора (LIF) людини або миші та рецептор ціліарного нейротрофічного фактора (CNTF) людини або миші [hEPOR: Simon, S. et al. (1990) Blood 76, 31-35; mEPOR: D'Andrea, AD. et al. (1989) Cell 57, 277-285; hG-CSFR: Fukunaga, R. et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87, 8702-8706; mG-CSFR: Fukunaga, R. et al. (1990) Cell 61, 341-350; hTPOR: Vigon, I. et al. (1992) 89, 5640-5644.; mTPOR: Skoda, RC. et al. (1993) 12, 2645-2653; hInsR: Ullrich, A. et al. (1985) Nature 313, 756-761; hFlt-3: Small, D. et al. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 91, 459-463; hPDGFR: Gronwald, RGK. et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85, 3435-3439; hIFN α/β R: Uze, G. et al. (1990) Cell 60, 225-234; and Novick, D. et al. (1994) Cell 77, 391-400]].

Раккові антигени – це антигени, які експресуються після злоякісної трансформації клітини, та їх також називають пухлинспецифічними антигенами. Крім того, аномальні цукрові ланцюги, які виникають на поверхні клітини або на молекулі білка, коли клітина стає раковою, є також раковими антигенами, та їх також називають раковими антигенами цукрових ланцюгів. Приклади ракових антигенів включають EpCAM (молекулу адгезії молекулярних клітин), яка експресується при багатьох видах раку, включаючи рак легень [Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1989) 86 (1), 27-31] (її полінуклеотидна послідовність вказується як RefSeq Accession No. NM_002354.2 та її поліпептидна послідовність вказується як RefSeq Accession No. NP_002345.2), CA19-9, CA15-3, сіалований SSEA-1 (стадієспецифічний ембріональний антиген-1) (SLX) (сіалований антиген Льюїса) тощо.

Антигени головного комплексу гістосумісності (MHC) можна взагалі підрозділити на антигени MHC класу I та антигени MHC класу II: антигени MHC класу I включають HLA-A, -B, -C, -E, -F, -G та -H; та антигени MHC класу II включають HLA-DR, -DQ та -DP.

Диференціальні антигени включають CD1, CD2, CD3, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD23, CD25, CD28, CD29, CD30, CD32, CD33, CD34, CD35, CD38, CD40, CD41a, CD41b, CD42a, CD42b, CD43, CD44, CD45, CD45RO, CD48, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD51, CD54, CD55, CD56, CD57, CD58, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD64, CD69, CD71, CD73, CD95, CD102, CD106, CD122, CD126 та CDw130.

Антигензв'язувальна молекула цього винаходу може бути біспецифічним антитілом; та, у цьому випадку, два антигени (або епітопи), які розпізнаються цим антитілом, можна довільно вибрати з вищезгаданих рецепторів або їх фрагментів, ракових антигенів, антигенів MHC, диференціальних антигенів та їм подібного. Наприклад, два антигени можна вибрати з рецепторів або їх фрагментів, два можна вибрати з ракових антигенів, два можна вибрати з антигенів MHC або два можна вибрати з диференціальних антигенів. Крім того, кожен один антиген можна вибрати з двох антигенів, які довільно вибрані з, наприклад, рецепторів або їх фрагментів, ракових антигенів, антигенів MHC та диференціальних антигенів.

Крім того, цей винахід передбачає спосіб отримання антигензв'язувальної молекули, в якому асоціація між важким ланцюгом і легким ланцюгом є регульованою. Переважний варіант здійснення способу отримання за цим винаходом представляє спосіб отримання антигензв'язувальної молекули, в якому асоціація між важким ланцюгом і легким ланцюгом є регульованою, який передбачає:

(1) здійснення модифікування нуклеїнових кислот, що кодують CH1 і CL так, що один набір або два або більше наборів амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається з наборів амінокислотних залишків, наведених у від (a) до (c) нижче, являють собою амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного:

(a) амінокислотний залишок в CH1, який знаходиться на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок в CL, який знаходиться на позиції 180 згідно з нумерацією за Кабат,

(b) амінокислотний залишок в CH1, який знаходиться на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок в CL, який знаходиться на позиції 131 згідно з нумерацією за Кабат, і

(c) амінокислотні залишки в CH1, які знаходяться на позиціях 147 і 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотні залишки в CL, які знаходяться на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією за Кабат;

(2) введення модифікованих нуклеїнових кислот в клітину-хазяїна і культивування клітини-хазяїна таким чином, щоб експресувалися нуклеїнові кислоти; і

(3) збирання антигензв'язувальної молекули з культури клітини-хазяїна.

Крім того, цей винахід відноситься до способу отримання, який передбачає на

вищезгаданому етапі (1) здійснення модифікування нуклеїнових кислот так, що амінокислотні залишки, що електрично відштовхують один одного, вибрані серед амінокислотних залишків, що містяться в будь-якій з груп вищезгаданих (X) і (Y).

Більш того, цей винахід відноситься до способу отримання, який передбачає на вищезгаданому етапі (1) здійснення модифікування нуклеїнових кислот, так що два або більше амінокислотних залишків, що утворюють інтерфейс між VH і VL, являють собою амінокислотні залишки, які електрично відштовхують один одного. Переважно, амінокислотні залишки, які електрично відштовхують один одного, являють собою будь-який набір амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається з, наприклад, наборів амінокислотних залишків, наведених в (a) і (b) нижче:

(a) амінокислотний залишок, який міститься в VH на позиції 39 згідно з нумерацією за Кабат, і амінокислотний залишок, який міститься в VL на позиції 38 згідно з нумерацією за Кабат; або

(b) амінокислотний залишок, який міститься в VH на позиції 45 згідно з нумерацією за Кабат, і амінокислотний залишок, який міститься в VL на позиції 44 згідно з нумерацією за Кабат.

Вищезгадані амінокислотні залишки, які електрично відштовхують один одного, є переважно вибраними з амінокислотних залишків, що містяться в будь-якому наборі вищезгаданих (X) і (Y).

Крім того, цей винахід передбачає спосіб регулювання асоціації важкого і легкого ланцюгів в антигензв'язувальній молекулі. Переважний варіант здійснення способу регулювання асоціації за цим винаходом - це спосіб регулювання асоціації важкого і легкого ланцюгів антигензв'язувальної молекули, який включає здійснення модифікування нуклеїнових кислот так, що один набір або два або більше наборів амінокислотних залишків, вибраних з групи, що складається з наборів амінокислотних залишків, наведених у від (a) до (c) нижче, являють собою амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного:

(a) амінокислотний залишок в CH1, який знаходиться на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок в CL, який знаходиться на позиції 180 згідно з нумерацією EU,

(b) амінокислотний залишок в CH1, який знаходиться на позиції 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотний залишок в CL, який знаходиться на позиції 131 згідно з нумерацією EU, і

(c) амінокислотні залишки в CH1, які знаходяться на позиціях 147 і 175 згідно з нумерацією EU, і амінокислотні залишки в CL, які знаходяться на позиціях 131 і 180 згідно з нумерацією EU.

Крім того, цей винахід відноситься до способу регулювання асоціації, який передбачає на вищезгаданому етапі (1) здійснення модифікування нуклеїнових кислот так, що амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного, є вибраними з амінокислотних залишків, включених у вищезгадану групу (X) або (Y).

Більш того, цей винахід відноситься до способу регулювання асоціації, який передбачає на вищезгаданому етапі (1) здійснення модифікування нуклеїнових кислот так, що два або більше амінокислотних залишків, що утворюють інтерфейс VH-VL, являють собою амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного. Тут амінокислотні залишки, які електростатично відштовхують один одного, являють собою переважно будь-який набір з амінокислотних залишків, вибраний з групи, що складається з, наприклад, наборів амінокислотних залишків, наведених в (a) і (b) нижче:

(a) амінокислотний залишок у VH, який знаходиться на позиції 39 згідно з нумерацією за Кабат, і амінокислотний залишок у VL, який знаходиться на позиції 38 згідно з нумерацією за Кабат,

(b) амінокислотний залишок у VH, який знаходиться на позиції 45 згідно з нумерацією за Кабат, і амінокислотний залишок у VL, який знаходиться на позиції 44 згідно з нумерацією за Кабат.

Згідно зі способом регулювання асоціації цього винаходу бажане біспецифічне антитіло можна отримати переважно та ефективно, як описано раніше. А саме, бажаний гетеромерний мультимер у формі біспецифічного антитіла можна ефективно утворити з мономерної суміші.

Фраза "здійснення модифікування нуклеїнові кислоти" у вищезгаданих способах цього винаходу означає здійснення модифікування нуклеїнові кислоти так, щоб вони відповідали амінокислотним залишкам, введеним шляхом "модифікації" цього винаходу. Конкретніше, вона означає здійснення модифікування нуклеїнових кислот, що кодують оригінальні (до модифікації) амінокислотні залишки, у нуклеїнові кислоти, що кодують амінокислотні залишки, які слід ввести шляхом модифікації. Зазвичай, це означає здійснення генних маніпуляцій або обробки з метою отримання мутацій, внаслідок яких відбувається щонайменше одна нуклеотидна вставка, делеція або заміна в оригінальній нуклеїновій кислоті, так що утворюються кодони, які кодують амінокислотні залишки, що представляють інтерес. Конкретніше, кодони, що кодують оригінальні амінокислотні залишки, замінюють кодонами, що кодують амінокислотні залишки, які слід ввести шляхом модифікації. Таку модифікацію нуклеїнової кислоти здатні відповідним

чином виконувати фахівці у цій галузі, застосовуючи відомі способи, такі як сайт-специфічний мутагенез та мутагенез ПЛР.

Крім того, цим винаходом пропонуються нуклеїнові кислоти, які кодують антигензв'язувальну молекулу цього винаходу. Крім того, вектори, які несуть ці нуклеїнові кислоти, також включені у цей винахід.

Крім того, цей винахід стосується фармацевтичних складів, які містять антигензв'язувальну молекулу цього винаходу та фармацевтично прийнятний носій. У цьому винаході фармацевтичні склади зазвичай означають фармацевтичні агенти для лікування, або профілактики, або тестування та діагностування хвороб.

Фармацевтичні склади цього винаходу можна виготовити за способами, відомими фахівцям у цій галузі. Крім того, антигензв'язувальну молекулу цього винаходу, якщо необхідно, можна змішати разом з іншими фармацевтичними речовинами. Наприклад, їх можна застосовувати парентерально у формі ін'єкції стерильного розчину або суспензії на основі води або іншої фармацевтично прийнятної рідини. Наприклад, їх можна виготовити як одиничні дози, які відповідають вимогам до приготування фармацевтичних препаратів, шляхом відповідного комбінування з фармацевтично прийнятними носіями або середовищами, конкретно - зі стерильною водою, фізіологічним сольовим розчином, рослинною олією, емульгатором, суспензією, детергентом, стабілізатором, ароматизатором, допоміжною речовиною, наповнювачем, консервантом, зв'язувальним агентом або їм подібним. У таких препаратах кількість активного інгредієнта регулюють так, щоб доза відповідала належним чином попередньо визначеному діапазону.

Амінокислоти, що містяться в амінокислотних послідовностях цього винаходу можуть бути модифікованими після трансляції (наприклад, модифікація N-кінцевого глутаміну на піроглутамінову кислоту внаслідок піроглутамінації є добре відомою фахівцям у цій галузі). Природно, що такі модифіковані після трансляції амінокислоти включені до амінокислотних послідовностей цього винаходу.

Усі документи попереднього рівня техніки, процитовані у цьому описі винаходу, включені до нього шляхом посилання.

Приклади

Наступне – це приклади способів та композицій цього винаходу. Зрозуміло, що на практиці можна втілювати різноманітні інші варіанти здійснення, які відповідають загальному опису винаходу, наведеному вище.

Хоча вищеописаний винахід був детально описаний як ілюстрація та приклад задля чіткого його розуміння, описи та приклади не слід розглядати як такі, що обмежують обсяг винаходу. Описи усієї патентної та наукової літератури, процитовані у цьому описі винаходу, безпосередньо включено у їх повному обсязі шляхом посилання.

Приклад 1. Отримання нових L-ланцюгів, які відповідають кожному H-ланцюгу ACE910 (еміцизумабу)

ACE910 (еміцизумаб) – це гуманізоване антитіло IgG4, яке складається з анти-FIX(a) та анти-FX та демонструє активність заміщувати кофакторну функцію FVIII. Воно складається з двох різних важких ланцюгів (Q499 та J327), які зв'язуються з FIX(a) та FX, відповідно, та однакового L-ланцюга (L404) (важкі ланцюги: SEQ ID NO: 10 та 11; легкий ланцюг: SEQ ID NO: 12). Можливий спосіб зниження реакційної здатності по відношенню до антиідіотипічного антитіла до ACE910 (еміцизумабу) та покращення активності заміщувати кофакторну функцію FVIII полягав в отриманні з бібліотеки антитіл людини нового L-ланцюга з послідовністю, повністю відмінною від однакового L-ланцюга, відповідно до кожного з H-ланцюгів антитіла проти FIX(a) та антитіла проти FX (Q499 та J327). Отже, автори цього винаходу отримали нові L-ланцюги, як показано на фіг. 10 та у таблиці 7, згідно з референтним прикладом 1. У цих прикладах FIX(a) означає FIX та/або FIXa.

Ці антитіла досліджували стосовно реакційної здатності по відношенню до антиідіотипічного антитіла до ACE910 (еміцизумабу). Антиідіотипічне антитіло до ACE910 (еміцизумабу) отримали за наступним способом. По-перше, F(ab')₂ Q499/L404 та F(ab')₂ J327/L404 від ACE910 (еміцизумабу), які розпізнають FIX(a) та FX, відповідно, ввели кролям та отримали кролячу сироватку проти Q499/L404 F(ab')₂ та кролячу сироватку проти J327/L404 F(ab')₂. Одержані за допомогою сульфату амонію фракції цих сироваток пропустили крізь зв'язану з IgG людини колонку, щоб видалити реактивні до IgG людини антитіла. Далі, виконали афінне очищення, використовуючи зв'язану з Q499/L404 (або J327/L404) колонку, та видалили реактивні до J327/L404 (або Q499/L404) антитіла, використовуючи зв'язану з J327/L404 (або Q499/L404) колонку, та таким чином отримали поліклональні антиідіотипічні антитіла, які специфічно зв'язуються з Q499/L404 (або J327/L404).

Отримане антиідіотипічне антитіло використовували для вимірювання сили його зв'язування з міченим ACE910 (еміцизумабом) за допомогою електрохемілюмінесцентного імуноаналізу, при якому оцінювали пригнічення зв'язування випробовуваною речовиною. По-перше, випробовувану речовину (біспецифічне антитіло) додали у концентрації 0, 1, 3, 10, 30 або 100 мкг/мл до суміші антиідіотипічного антитіла до Q499/L404, антиідіотипічного антитіла до J327/L404, міченого біотином ACE910 (еміцизумабу) та міченого SULFO-TAG ACE910 (еміцизумабу). Отриману суміш інкубували протягом ночі у холодильнику. Суміш потім додали до планшета з 96 лунками. Після того, як планшет промоили, силу зв'язування виміряли за способом електрохемілюмінесценції.

Як приклад, у таблиці 2 показано результат для біспецифічного антитіла Q499/QNK131/J327/JNL095 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO: 45/13//46/31; константні ділянки: SEQ ID NO: 95/99//97/101) та результат для Q499/QL20/J327/JL01 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO: 45/43//46/44; константні ділянки: SEQ ID NO: 95/99//97/101), які були отримані у прикладі 3, показано на фіг. 1. ACE910 (еміцизумаб) знижував силу зв'язування між міченим ACE910 (еміцизумабом) та антиідіотипічним антитілом в залежності від концентрації доданого антитіла, тим самим продемонструвавши пригнічувальний ефект. З іншого боку, була визначено, що антитіла з новими L-ланцюгами демонстрували суттєво знижене зв'язування з антиідіотипічним антитілом до ACE910 (еміцизумабу).

Отже, авторам цього винаходу вдалося успішно отримати нові L-ланцюги, які, навіть коли вони з'єднані з такими ж самими H-ланцюгами, що й H-ланцюги ACE910 (еміцизумабу) (SEQ ID NO: 45 та 46), демонструють суттєво знижене зв'язування з антиідіотипічним антитілом до ACE910 (еміцизумабу) та мають активність заміщувати кофакторну функцію FVIII. Тому очікують, що ці біспецифічні антитіла можна вводити навіть тим пацієнтам з гемофілією A, у яких утворилося антиідіотипічне антитіло до ACE910 (еміцизумабу).

Таблиця 2

Біспецифічні антитіла, досліджені стосовно реакційної здатності по відношенню до антиідіотипічного антитіла до ACE910 (еміцизумабу)

Назва клону	SEQ ID NO варіабельної ділянки важкого ланцюга 1	SEQ ID NO варіабельної ділянки легкого ланцюга 1	SEQ ID NO варіабельної ділянки важкого ланцюга 2	SEQ ID NO варіабельної ділянки легкого ланцюга 2
Q499/QNK131/J327/JNL095	45	13	46	31
Q499/QL20/J327/JL01	45	43	46	44

Приклад 2. Отримання модифікованих біспецифічних антитіл, що мають нові L-ланцюги, та тримання модифікованих H-ланцюгів

Для того, щоб у біспецифічних антитіл, які мають нові L-ланцюги, отримані у референтному прикладі 1, покращити активність заміщувати кофакторну функцію FVIII, вибрали QNK131 (SEQ ID NO: 13), новий L-ланцюг для антитіла проти FIX(a), та JNL095 (SEQ ID NO: 31), новий L-ланцюг для антитіла проти FX, а їх амінокислоти всеосяжним чином піддали мутації за допомогою способів, відомих фахівцям у цій галузі, таких як ПЛР. Мутанти піддали великомасштабному скринінгу щодо активності заміщувати кофакторну функцію FVIII та таким чином отримали варіанти амінокислотних замінів з покращеною активністю заміщувати кофакторну функцію FVIII.

Разом з цим, використовуючи отримані нові L-ланцюги, отримали варіанти замінів, у яких усі CDR Q499 та J327 всеосяжним чином мутувалися внаслідок заміни усіма амінокислотами, за виключенням цистеїну. Варіанти піддали великомасштабному скринінгу стосовно активності заміщувати кофакторну функцію FVIII, щоб визначити амінокислотні заміни, які покращили активність заміщувати кофакторну функцію FVIII.

У WO2012/067176 успішно отримали біспецифічні антитіла, активність заміщувати кофакторну функцію FVIII яких підвищилася, а пригнічувальний вплив яких на реакцію FIXa активувати FX із застосуванням FVIIIa як кофактора не підвищився. Цей процес оптимізації також покращив активність заміщувати кофакторну функцію FVIII без підвищення пригнічувального впливу на реакцію FIXa активувати FX із застосуванням FVIIIa як кофактора, але вперше було визначено, що він впливає на активацію FIX за допомогою FIXa (фіг. 3(1)). Активність заміщувати кофакторну функцію FVIII, наведену на фіг. 3(1), фіг. 3(2) та фіг. 4,

вимірювали за способом, описаним у референтному прикладі 1, за винятком того, що концентрацію фактора X людини змінили на 22,9 мкг/мл, а концентрацію фосфоліпиду – на 6,0 мкМ. Крім того, активність пригнічувати активацію FIX означає знижене поглинання у реакції активації FIX за допомогою FXIa, що визначається із застосуванням колориметрії. Конкретно, вимірювання виконували за наступним способом. 5 мкл розчину антитіла, розведеного TBSB, змішали з 5 мкл фактора IX людини з концентрацією 3 одиниці/мл (Christmassin M, Japan Blood Products Organization) та інкубували у планшеті з 384 лунками при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Ферментативну реакцію у цій суміші ініціювали шляхом додавання 5 мкл фактора XIa людини з концентрацією 90 нг/мл (Enzyme Research Laboratories). Через 60 хвилин реакцію припинили шляхом додавання 5 мкл 0,5 М EDTA. Реакцію забарвлення розпочали шляхом додавання 10 мкл розчину забарвлення субстрату. Через 60 хвилин реакції забарвлення виміряли зміну в поглинанні при 405 нм, застосовуючи SpectroMax 340PC384 (Molecular Devices). Розчинником фактора IX людини та фактора XIa людини був TBSB, що містив 6,0 мкМ фосфоліпідний розчин (SYSMEX CO.) та 1,5 мМ CaCl₂. Розчин забарвлення субстрату, Spectrozyme FIX (Sekisui Diagnostics), використовували для цього аналізу після розчинення в очищеній воді, внаслідок чого отримали 6,7 мМ розчин, а потім його змішали з етиленгліколем у відношенні 5:8. Внаслідок цього вищезазначені зразки показали зниження значення оптичної густини (OD) порівняно з умовами без антитіла, що вказує на те, що виробництво FIXa знизилося. В активності заміщувати кофакторну функцію FVIII та активності пригнічувати активацію FIX, як показано на фіг. 3, кінцева концентрація антитіла становила 100 мкг/мл. Кінцева концентрація антитіла означає концентрацію у змішаному розчині розчину антитіла, фактора IX людини та фактора XIa людини. У притаманній реакції коагуляції *in vivo* FIXa виробляється внаслідок активації FIX за допомогою FXIa. Тому, внаслідок пригнічення цього процесу активації знижується виробництво FIXa, що далі має негативний вплив на кількісне значення підвищення опосередкованої FIXa активації FX біспецифічним антитілом, яке має активність заміщувати кофакторну функцію FVIII (фіг. 2). Отже, щоб отримати біспецифічне антитіло з вищою активністю заміщувати кофакторну функцію FVIII переважно, щоб активність пригнічувати активацію FIX була якомога нижчою.

Відповідно до цього на підставі результатів вищезгаданого великомасштабного скринінгу стосовно активності заміщувати кофакторну функцію FVIII автори даного винаходу визначили численні амінокислотні модифікації, які значно підвищують активність заміщувати кофакторну функцію FVIII порівняно з підвищенням активності пригнічувати активацію FIX. Конкретно такими модифікаціями є S30R, S31R, T53R (усі згідно з нумерацією за Кабат) тощо. Ці модифікації багаторазово здійснили у QNK131 (SEQ ID NO: 13), внаслідок чого отримали QL20 (QAL201) (SEQ ID NO: 43). Далі, варіанти амінокислотних замінів отримали шляхом всеосяжного здійснення численних амінокислотних замінів у CDR у варіанті, що має QL20 як L-ланцюг для антитіла проти FIX(a). Варіанти піддали великомасштабному скринінгу, вимірюючи активність заміщувати кофакторну функцію FVIII та активність пригнічувати активацію FIX. Як наслідок, визначили комбінації модифікацій, які знижують активність пригнічувати активацію FIX, при цьому зберігаючи активність заміщувати кофакторну функцію FVIII. Конкретно, вони були комбінаціями основних та кислотних залишків, такими як S30R/S31R/N32D, S30R/S31R/N32E та Q27R/R93D (усі згідно з нумерацією за Кабат) у L-ланцюгу антитіла проти FIX(a).

Крім того, варіанти амінокислотних замінів також отримали шляхом всеосяжного здійснення амінокислотних замінів у ділянках FR, сайтах контакту з неантигеном, та їх піддали скринінгу стосовно визначення активності. Як наслідок, визначили численні модифікації, які далі підвищували активність заміщувати кофакторну функцію FVIII, при цьому зберігаючи активність пригнічувати активацію FIX. Конкретно, варіанти амінокислотних замінів, у яких Phe83 у L-ланцюзі антитіла проти FIX(a) замінили залишком Met, залишком Ala або їм подібним або у яких Arg45 - залишком Glu, продемонстрували підвищену активність заміщувати кофакторну функцію FVIII.

Для того, щоб оптимізувати комбінацію вищезгаданих модифікацій, а також баланс антигензв'язувальної афінності (асоціації та дисоціації) як плеча проти FIX(a), так і плеча проти FX, здійснили вичерпні об'єднання в пари антитіл проти FIX(a) та проти FX. Конкретно, для антитіла проти FIX(a) Н-ланцюг модифікували шляхом здійснення Y100E, Y100eI, або шляхом делеції G100a, або їх комбінації, L-ланцюг модифікували шляхом введення вставки A55E, K92R, вставки Pro на позиції 95 або L96G або їх комбінації. Для антитіла проти FX Н-ланцюг модифікували шляхом здійснення T28E/D31N або D31N/Q, I51S, G56T/R, S57V, Y59S, E61R, E62K, D65N/Q, V67L, K73I, S82bE, E102V або комбінації цих модифікацій, а для L-ланцюга JNL095 (SEQ ID NO: 31) модифікували шляхом здійснення E24T, N26E, H27Q, G29S, D30S/Q/E, K31R, H32E/Q, R50Q, D92A, S94D, S95D/A, A95aY, V96T або комбінації цих модифікацій (усі згідно з нумерацією за Кабат), тим самим оптимізуючи антигензв'язувальну афінність.

Як наслідок, авторам цього винаходу вдалося успішно отримати варіанти, активність яких пригнічувати активацію FIX не підвищилася, проте активність яких заміщувати кофакторну функцію FVIII помітно покращилася (біспецифічні антитіла, що складаються з комбінації константної ділянки Н-ланцюга за будь-якою з SEQ ID NO: 95-98 та константної ділянки L-ланцюга за будь-якою з SEQ ID NO: 99-104, та комбінації варіабельних ділянок, наведених у таблиці 4) порівняно з ACE910 (еміцизумабом) та порівняно з варіантами, які у WO2012067176 продемонстрували, що вони мають вищу активність заміщувати кофакторну функцію FVIII порівняно з ACE910 (еміцизумабом) (біспецифічні антитіла, що складаються з константної ділянки Н-ланцюга SEQ ID NO: 95 або 97 та константної ділянки L-ланцюга SEQ ID NO: 99, та комбінації варіабельних ділянок, наведених у таблиці 3) (фіг. 3(2)). Крім того, як показано на фіг. 4, було визначено, що ці варіанти мають помітно покращену максимальну активність та специфічну активність порівняно з ACE910 (еміцизумабом). Активність заміщувати кофакторну функцію FVIII, показану на фіг. 4, вимірювали за способом, описаним у референтному прикладі 1, за винятком того, що концентрацію фактора X людини змінили на 22,9 мкг/мл, а концентрацію фосфоліпиду – на 6,0 мкМ.

Крім того, для того, щоб підтвердити, що активність заміщувати кофакторну функцію FVIII сприяє утворенню тромбіну у плазмі, виконували тест тромбіноутворення за способом, відомим фахівцям у цій галузі. Конкретно, 8 мкл біспецифічного антитіла, розведеного TBSB, додали до 72 мкл плазми з дефіцитом FVIII (George King) та інкубували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин або довше. Далі, додали 20 мкл тригерного реагенту, що містив 20 мкМ фосфоліпід та 5 нг/мл фактора XIa людини (Enzyme Research Laboratories). Далі, додали 20 мкл змішаного розчину Fluo-буферу та Fluo-субстрату з FluCa-Kit (Thrombinoscope), щоб розпочати реакцію коагуляції. Кількість утвореного тромбіну визначили, застосовуючи аналітичну систему для флуорометрії тромбіноутворення (Thrombinoscope). Антитіло додали, щоб отримати кінцеву концентрацію 10 мкг/мл. Кінцева концентрація антитіла означає концентрацію суміші плазми з дефіцитом FVIII та розчину антитіла. Коли пікову висоту при додаванні антитіла використовували як показник рівня тромбіноутворення, результат показав, що усі біспецифічні антитіла, вказані у таблиці 5, демонстрували подальше підвищення рівня тромбіноутворення порівняно з ACE910 (еміцизумабом, Q499/L404/J327/L404). Крім того, при порівнянні з FVIII, доданим як позитивний контрольний (Kogenate-FS BIO-SET; Bayer), ряд варіантів (QH01/QL21/JH01/JL01, QH02/QL22/JH01/JL01, QH03/QL23/JH02/JL02, QH03/QL24/JH02/JL02, QH02/QL22/JH04/JL04, QH04/QL26/JH02/JL02, QH04/QL26/JH05/JL05, QH06/QL30/JH07/JL07, QH04/QL31/JH08/JL08, QH06/QL32/JH07/JL07, QH06/QL32/JH09/JL09, QH06/QL30/JH10/JL10, QH07/QL33/JH11/JL11) продемонстрували вищий рівень тромбіноутворення порівняно з тим, коли додавали 40 одиниць/дл FVIII, який є рівнем здорових людей (фіг. 5).

Таблиця 3

Комбінації варіабельних ділянок ACE910 (еміцизумабу) та варіанти, які у WO2012067176 показали, що мають вищу активність заміщувати кофакторну функцію FVIII порівняно з ACE910 (еміцизумабом)

Назва клону	Антитіло проти FIX(a)		Антитіло проти FX	
	SEQ ID NO варіабельної ділянки важкого ланцюга	SEQ ID NO варіабельної ділянки легкого ланцюга	SEQ ID NO варіабельної ділянки важкого ланцюга	SEQ ID NO варіабельної ділянки легкого ланцюга
Q499/L377/J327/L377	45	52	46	52
Q499/L248/J346/L248	45	53	50	53
Q354/L324/J259/L324	49	54	51	54
Q460/L334/J327/L334	48	55	46	55
Q499/L334/J327/L334	45	55	46	55

Таблиця 4

Варіанти, у яких значно покращилася тільки активність заміщувати кофакторну функцію FVIII

Назва клону	Антитіло проти FIX(a)		Антитіло проти FX	
	SEQ ID NO варіабельної ділянки важкого ланцюга	SEQ ID NO варіабельної ділянки легкого ланцюга	SEQ ID NO варіабельної ділянки важкого ланцюга	SEQ ID NO варіабельної ділянки легкого ланцюга
QH01/QL21/JH01/JL01	56	61	73	84
QH02/QL22/JH01/JL01	57	62	73	84
QH03/QL23/JH02/JL02	58	63	74	85
QH03/QL24/JH02/JL02	58	64	74	85
QH02/QL22/JH03/JL03	57	62	75	86
QH02/QL22/JH04/JL04	57	62	76	87
QH02/QL22/JH02/JL02	57	62	74	85
QH04/QL25/JH02/JL02	59	65	74	85
QH04/QL26/JH02/JL02	59	66	74	85
QH04/QL26/JH05/JL05	59	66	77	88
QH04/QL28/JH05/JL05	59	67	77	88
QH04/QL28/JH06/JL06	59	67	78	89
QH04/QL29/JH05/JL05	59	68	77	88
QH04/QL29/JH06/JL06	59	68	78	89
QH06/QL30/JH07/JL07	60	69	79	90
QH04/QL31/JH08/JL08	59	70	80	91
QH06/QL32/JH07/JL07	60	71	79	90
QH06/QL32/JH09/JL09	60	71	81	92
QH06/QL30/JH10/JL10	60	69	82	93
QH07/QL33/JH11/JL11	105	72	83	94

Приклад 3. Фармакокінетика (ФК) отриманих біспецифічних антитіл

Для зручності медикаментозного лікування пацієнтів з гемофілією А переважно, щоб антитіло, яке слід вводити, мало триваліший період напіврозпаду, щоб знизити частоту введення. Головні способи вдосконалення фармакокінетики антитіла включають спосіб підвищення рециркуляції у крові за допомогою FcRn та спосіб зниження клітинного поглинання через неспецифічне зв'язування [ADME and Translational Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of Therapeutic Proteins (2015) p25-37].

Як показано у прикладі 2, авторам цього винаходу вдалося успішно отримати біспецифічні антитіла зі значно покращеною активністю заміщувати кофакторну функцію FVIII, при цьому запобігаючи підвищенню їх активності пригнічувати активацію FIX. У процесі утворення цих антитіл автори також зробили спробу ослабити неспецифічне зв'язування, яке може впливати на фармакокінетику антитіл.

Конкретно, систему аналізу зв'язування із позаклітинним матриксом (ECM), яка відома як система оцінювання неспецифічного зв'язування *in vitro*, використовували для оцінювання антитіл [патент США 2014/0080153]. Як наслідок, зв'язування з ECM варіанта Q499/QL20/J327/JL01 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO: 45/43/46/44), який демонстрував високу активність заміщувати кофакторну функцію FVIII у Прикладі 2, було дуже високим порівняно з ACE910 (еміцизумабом). Проте, для варіантів, у яких Н-ланцюг антитіла проти FIX(a) був модифікований з використанням G97D, Y100D, Y100E та їм подібних, а L-ланцюг антитіла проти FIX(a) був модифікований з використанням N32D, N32E, A55E та їм подібних (що складаються з комбінації константної ділянки Nch (важкого ланцюга) за будь-якою з SEQ ID NO: 95-98 та константної ділянки Lch (легкого ланцюга) за будь-якою з SEQ ID NO: 99-104 та комбінації варіабельних ділянок, наведених у таблиці 5), зв'язування з ECM було з успіхом помітно знижено (фіг. 6).

Далі, варіанти, отримані внаслідок здійснення у константних ділянках вищезгаданих варіантів антитіл модифікації АСТ-Fc (Mabs, (2017) Vol.9, No.5, 844-853), яка покращує повернення у кров за допомогою FcRn, піддали тесту шляхом внутрішньовенного введення миші. Після введення антитіла зразки крові з часом зібрали та отримали плазму. Потім

вимірювали концентрацію введеного антитіла у плазмі за способом LC-MS/MS. Дані часової динаміки концентрації антитіла у плазмі проаналізували за допомогою WinNonlin ver 7.0 (Certara), щоб розрахувати кліренс антитіла (CL). В результаті цього визначили, що, при порівнянні з варіантом без модифікації АСТ-Fc, тобто QH01/QL21/JH01/JL01 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO: 56/61//73/84) або QH02/QL22/JH02/JL02 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO: 57/62//74/85), фармакокінетика антитіла (кліренс: CL) була з успіхом помітно покращена у варіантах з модифікацією АСТ-Fc, а саме: QH04/QL28/JH05/JL05 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO: 59/67//77/88), QH04/QL28/JH06/JL06 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO: 59/67//78/89), QH04/QL29/JH05/JL05 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO: 59/68//77/88) та QH04/QL29/JH06/JL06 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO: 59/68//78/89) (фіг. 7).

Таблиця 5

Комбінації варіабельних ділянок біспецифічних антитіл,
які демонструють низьку афінність зв'язування з ECM

Назва клону	Антитіло проти FIX(a)		Антитіло проти FX	
	SEQIDNO варіабельної ділянки важкого ланцюга	SEQIDNO варіабельної ділянки легкого ланцюга	SEQ IDNO варіабельної ділянки важкого ланцюга	SEQIDNO варіабельної ділянки легкого ланцюга
QH01/QL21/JH01/JL01	56	61	73	84
QH02/QL22/JH02/JL02	57	62	74	85
QH04/QL28/JH05/JL05	59	67	77	88
QH04/QL28/JH06/JL06	59	67	78	89
QH04/QL29/JH05/JL05	59	68	77	88
QH04/QL29/JH06/JL06	59	68	78	89
QH06/QL30/JH07/JL07	60	69	79	90
QH04/QL31/JH08/JL08	59	70	80	91
QH06/QL32/JH07/JL07	60	71	79	90
QH06/QL32/JH09/JL09	60	71	81	92
QH06/QL30/JH10/JL10	60	69	82	93
QH07/QL33/JH11/JL11	105	72	83	94

Приклад 4. Отримання біспецифічних антитіл

Як описано вище, автори цього винаходу здійснили модифікації двох відмінних важких ланцюгів (H-ланцюгів) та двох відмінних легких ланцюгів (L-ланцюгів) біспецифічних антитіл, щоб отримати антитіла з переважною ефективністю та переважними властивостями.

Коли біспецифічне антитіло експресується, тоді експресуються два відмінні H-ланцюги та два відмінні L-ланцюги. Тому можливі 10 різних комбінацій. Оскільки тільки одна з цих комбінацій представляє інтерес з точки зору біспецифічності, отримання біспецифічного антитіла, що представляє інтерес, потребує очищення одного антитіла, що представляє інтерес, з 10 відмінних антитіл, що є надзвичайно неефективним та складним. Як засіб розв'язання цієї проблеми відомий спосіб, у якому так робляться амінокислотні заміни у домені СН3 H-ланцюгів IgG, що з перевагою вивільняється IgG з двома комбінованими відмінними H-ланцюгами, а для подальшого ефективного отримання молекули, що представляє інтерес, відомі амінокислотні заміни та їх комбінації у варіабельних ділянках та границі контакту доменів СН1-CL для сприяння бажаної асоціації H-ланцюга та L-ланцюга (WO2013065708). Однак, також досліджувалися нові пари модифікацій.

Отримані антитіла та способи отримання

Далі в цьому описі важкий ланцюг та легкий ланцюг на боці антитіла проти FIX(a) позначаються як Q та K, відповідно, та важкий ланцюг та легкий ланцюг на боці антитіла проти FX позначаються як J та L, відповідно. Біспецифічне антитіло Q1014-G4T1k.LG.A5/AL869AE.F83M-kT0//J1494-G4T1h.LG.A5/YL681K27Q-lam1NL95 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO: 106/108//109/111, константні ділянки: SEQ ID NO: 107/99//110/101) застосовували як матричну послідовність. Комбінації модифікацій, наведені у таблиці 6, зробили у цьому антитілі, щоб отримати варіанти.

Мета цього експерименту полягає у визначенні регуляції асоціації важкого ланцюга та легкого ланцюга. Однак, коли один важкий ланцюг має константну ділянку, яка сприяє легкому виникненню гомологічної асоціації, експресуються усі 9 типів молекул, що являють собою

комбінації незбіжних пар, включаючи не тільки ті, що мають два відмінні важкі ланцюги, асоційовані гетерологічно, як показано на фіг. 8(8)-(10), але також й ті, які показано на фіг. 8(2)-(7). Це ускладнює аналіз та оцінювання молекули, що представляє інтерес (фіг. 8(1)). Тому, для того, щоб запобігти тому, щоб один важкий ланцюг спричиняв гомологічну асоціацію, зробили модифікації "виступ" та "западина" (KiH: виступи у западину) у константних ділянках важких ланцюгів (Q та J), відповідно (SEQ ID NO: 107 та 110), так щоб кількість типів антитіл, які можуть експресуватися як комбінації незбіжних пар, скоротилася б з 9 типів до 3 типів (фіг. 8(8)-(10)), та виконали аналіз.

Під час трансфекції чотири ланцюги експресувалися при трьох співвідношеннях кількості плазмід (Q:к:J:λ = 1:3:1:1, 1:1:1:1 та 1:1:1:3), та їх очищували за способами, відомими фахівцям у цій галузі. Коли ці ланцюги експресуються за умов, коли легкий ланцюг є надмірним, недостатня регуляція між важким та легким ланцюгами сприятиме утворенню комбінацій незбіжних пар. Навпаки, якщо біспецифічне антитіло, що представляє інтерес, утворюється з високою швидкістю за усіх трьох умов, можна вважати, що зроблена пара модифікацій має високу спроможність регуляції.

Крім того, для антитіл з незбіжних пар як референтні антитіла, що використовуються в катіонообмінній хроматографії (Cation Exchange Chromatography (CEX)), отримали референтні антитіла з однаковими легкими ланцюгами (Q/к/J/к та Q/λ/J/λ) шляхом експресії трьох ланцюгів Q/к/J або Q/λ/J.

Способи оцінки та аналізу

Отримані антитіла проаналізували за допомогою катіонообмінної хроматографії (CEX), застосовуючи систему Alliance (Waters). Спосіб з використанням градієнта двох рідин виконували, застосовуючи YMC-BioPro SP-F, 4,6 x 100 мм як аналітичну колонку, CX-1 pH Gradient Buffer A, pH 5,6 (Thermo) як рухому фазу A та CX-1 pH Gradient Buffer B, pH 10,2 (Thermo) як рухому фазу B. Вимірювання здійснювали при довжині хвилі 280 нм. Дані аналізували із застосуванням Empower3 (Waters) та розраховували відношення для кожного виявленого піка. У випадках, коли спостерігався лише єдиний пік, коли експресувалися чотири ланцюги, цей пік визначали як головний пік, тобто пік біспецифічного антитіла. Коли спостерігали численні піки, пік, який не перекривав піки референтних антитіл для антитіл з незбіжних пар, які мали однаковий легкий ланцюг, визначали як головний пік.

Результати та обговорення

Відношення піка біспецифічного антитіла, розраховане на підставі даних аналізу, наведено у таблиці 6, та кожен хроматограма показано на фіг. 9.

Визначили нові пари модифікацій № 14 (пара з амінокислотного залишку на позиції 175 (згідно з нумерацією EU) у CH1 та амінокислотного залишку на позиції 180 (згідно з нумерацією за Кабат) у CL) та № 15 (пара з амінокислотного залишку на позиції 175 (згідно з нумерацією EU) у CH1 та амінокислотного залишку на позиції 131 (згідно з нумерацією за Кабат) у CL), які демонстрували спроможність регуляції, порівнянну зі спроможністю регуляції пари № 10 (пара з амінокислотного залишку на позиції 147 (згідно з нумерацією EU) у CH1 та амінокислотного залишку на позиції 180 (згідно з нумерацією за Кабат) у CL) та пари № 11 (пара з амінокислотного залишку на позиції 147 (згідно з нумерацією EU) у CH1 та амінокислотного залишку на позиції 131 (згідно з нумерацією за Кабат) у CL), які належать до відомих модифікацій з WO2013065708.

Крім того, визначили нову пару модифікацій № 9 (пара з амінокислотних залишків на позиції 147 (згідно з нумерацією EU) та на позиції 175 (згідно з нумерацією EU) у CH1 та амінокислотних залишків на позиції 131 (згідно з нумерацією за Кабат) та позиції 180 (згідно з нумерацією за Кабат) у CL), яка демонструвала таку ж високу спроможність регуляції, що і відома комбінація № 6 (пара з амінокислотних залишків на позиції 147 (згідно з нумерацією EU) та на позиції 175 (згідно з нумерацією EU) у CH1 та амінокислотних залишків на позиції 131 (згідно з нумерацією за Кабат) та позиції 160 (згідно з нумерацією за Кабат) у CL).

Крім того, відомо, що специфічній асоціації між важким та легким ланцюгами сприяє пара модифікацій амінокислотного залишку на позиції 39 (згідно з нумерацією за Кабат) у VH та амінокислотного залишку на позиції 38 (згідно з нумерацією за Кабат) у VL (WO2013065708). Тому, цю пару модифікацій зробили у № 9, внаслідок чого отримали № 18 та № 19, та це проаналізували. Як наслідок, спостерігали, що в результаті усіх модифікацій спроможність регуляції була високою.

Крім того, коли пару модифікацій № 9, яку вперше визначили у цьому винаході, застосували до матриці, яка має пару модифікацій (E356K-K439E) для стимульованої асоціації H-ланцюга, відмінної від KiH (Q1014Q39E-G4T1A5LG409K.E356K/ AL869Q38KAE.F83M-kT0// J1494Q39K-G4T1A5LG409K.K439E/ YL681.K27Q.Q38E-lam1NL95 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO:

112/113//114/115, константні ділянки: SEQ ID NO: 117/99//116/101)), також спостерігали високу спроможність регуляції (No. 20: Q1014Q39E-G4T1th2A5LG409K.E356K/AL869Q38KAE.F83M-K0MTt17E160Q//J1494Q39K-G4T1th13A5LG409K.K439E/YL681.K27Q.Q38E-lam1p9 (варіабельні ділянки: SEQ ID NO: 112/113//114/115, константні ділянки: SEQ ID NO: 119/100//118/102).

5

Таблиця 6

Введені модифікації та відсоткове відношення біспецифічного антитіла за кожної умови експресії (%)

№	Q-ланцюг										J-ланцюг										Fc	Відсоток біспецифічного антитіла (%)		
	H-ланцюг (Q)					L-ланцюг (K)					H-ланцюг (J)					L-ланцюг (λ)						Сп вв'їдїюлення кількості плгзмід (Q;K;J;λ)		
	G3 9	K1 47	Q1 75	K2 13	Q3 8	E1 23	S1 31	Q1 60	T1 80	Q3 9	K1 47	Q1 75	K2 13	Q 38	E1 23	T1 31	E1 60	S1 80	1:3:1: 1	1:1:1: 1		1:1:1: :3		
1	к	-	К		Е	-	Е	Е	Е	Е	Е	Е	Е	К	к	к	К	К	КіН	100,0 0	99,63	99,84		
2	-	-	К	-	-	-	Е	Е	Е	-	Е	Е	Е	-	к	к	К	К	КіН	99,89	99,80	99,58		
3	-	-	-	-	-	-	Е	-	Е	-	Е	-	-	-	-	к	-	К	КіН	94,57	95,90	94,63		
4	-	-	К	-	-	-	-	Е	Е	-	Е	Е	-		-	-	к	К	КіН	96,95	98,67	49,99		
5	-	-	-	-	-	-	-	-	Е	-	Е	-	Е	-	к	-	-	к	КіН	89,47	82,13	42,25		
6	-	-	К	-	-	-	Е	Е	-	-	Е	Е	-	-	-	к	к	-	КіН	99,15	98,98	95,23		
7	-	-	-	-	-	-	Е	-	-	-	Е	-	Е	-	к	к	-	-	КіН	98,19	93,81	81,57		
8	-	-	к	-	-	-	-	Е	-	-	-	Е	Е	-	к	-	к		КіН	83,85	79,87	23,41		
9	-	-	к	-	-	-	Е	-	Е	-	Е	Е	-	-	-	к	-	к	КіН	97,53	97,75	96,62		
10	-	-	-	-	-	-	-	-	Е	-	Е	-	-	-	-	-	-	к	КіН	83,72	78,41	43,93		
11	-	-	-	-	-	-	Е	-	-	-	Е	-	-	-	-	к	-	-	КіН	91,72	86,80	36,37		
12	-	-	к	-	-	-	-	Е	-	-	-	Е	-	-	-	-	к	-	КіН	82,07	78,11	23,14		
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Е	-	к	-	-	-	КіН	73,93	66,69	24,94		
14	-	-	к	-	-	-	-	-	Е	-	-	Е	-	-	-	-	-	к	КіН	80,27	76,61	46,85		
15	-	-	к	-	-	-	Е	-	-			Е	-	-	-	к	-		КіН	84,05	87,10	79,13		
16	-	Е	Е	-	-	-	К	-	К	-	-	К	-	-	-	Е	-	Е	КіН	98,30	95,98	81,09		
17	-	Е	Е	-	-	-	К	К	-	-	-	К	-	-	-	Е	-	-	КіН	93,48	83,38	50,66		
18	Е	-	К	-	К	-	Е	-	Е	к	Е	Е	-	Е	-	К	-	К	КіН	96,50	99,24	99,85		
19	К	-	к		Е		Е	-	Е	Е	Е	Е	-	К	-	К	-	к	КіН	99,59	98,42	97,75		
20	Е	-	к	-	К	-	Е	-	Е	К	Е	Е	-	Е	-	к	-	к	E356K/K 439E	79,51	85,59	82,39		

"-" вказує на те, що жодної модифікації не було зроблено. Кількість кожного залишку вказано згідно з нумерацією за Кабат для варіабельної ділянки Н-ланцюга, варіабельної ділянки L-ланцюга та константної ділянки L-ланцюга, а згідно з нумерацією EU - для константної ділянки Н-ланцюга.

Цей винахід виявив нові легкі ланцюги, які знижують реакційну здатність по відношенню до антидіотипічного антитіла до ACE910 (еміцизумабу) та демонструють активність заміщувати кофакторну функцію FVIII, та виявив амінокислотні заміни та їх комбінації для важкого та легкого ланцюгів, які покращують активність заміщувати кофакторну функцію FVIII біспецифічних антитіл, що мають ці легкі ланцюги, при цьому не підвищуючи їхньої активності пригнічувати активацію FIX. Ці амінокислотні заміни та їх комбінації є корисними для утворення біспецифічних антитіл, які мають кращу активність заміщувати кофакторну функцію FVIII порівняно з ACE910 (еміцизумабом).

Референтний приклад 1

Можливий спосіб покращення активності ACE910 заміщувати кофакторну функцію FVIII полягав в отриманні з бібліотеки антитіл людини нового L-ланцюга з послідовністю, повністю відмінною від спільного L-ланцюга, у відповідності з кожним з Н-ланцюгів антитіла проти FIX(a) та антитіла проти FX (Q499 та J327).

Звернувшись до способів, відомих фахівцям у цій галузі, конкретно, до Biochemical and

Biophysical Research Communications, (2000), 275, 2, 553-557 та йому подібних, автори цього винаходу отримали нову бібліотеку, замінивши L-ланцюг антидіотипічного антитіла до ACE910 (еміцизумабу) бібліотекою L-ланцюгів людини, та здійснили пенінг проти міченого біотином FIXа людини та міченого біотином FX людини, щоб отримати антитіла з новими легкими ланцюгами, які мають активність заміщувати кофакторну функцію FVIII.

Як наслідок, QNK131 (SEQ ID NO: 13), QNK284 (SEQ ID NO: 14), QNK315 (SEQ ID NO: 15), QNL182 (SEQ ID NO: 16), QNL492 (SEQ ID NO: 17) та QNL576 (SEQ ID NO: 18) були визначені як варіабельні ділянки L-ланцюга для біспецифічних антитіл проти FIX(a) людини, які мають активність заміщувати кофакторну функцію FVIII, та JNK131 (SEQ ID NO: 19), JNK163 (SEQ ID NO: 20), JNK252 (SEQ ID NO: 21), JNK263 (SEQ ID NO: 22), JNK339 (SEQ ID NO: 23), (SEQ ID NO: 24), JNK351 (SEQ ID NO: 25), JNK360 (SEQ ID NO: 26), JNK378 (SEQ ID NO: 27), JNK382 (SEQ ID NO: 28), JNL036 (SEQ ID NO: 29), JNL072 (SEQ ID NO: 30), JNL095 (SEQ ID NO: 31), JNL176 (SEQ ID NO: 32), JNL208 (SEQ ID NO: 33), JNL224 (SEQ ID NO: 34), JNL260 (SEQ ID NO: 35), JNL056 (SEQ ID NO: 36), JNL059 (SEQ ID NO: 37), JNL226 (SEQ ID NO: 38), JNL250 (SEQ ID NO: 39), JNL263 (SEQ ID NO: 40) та JNL281 (SEQ ID NO: 41) були визначені як варіабельні ділянки L-ланцюга для антитіла проти FX людини.

Різноманітні біспецифічні антитіла, які мають ці нові L-ланцюги, експресували та їх очищували за способами, відомими фахівцям у цій галузі. Отримані антитіла наведені у таблиці 7 (показано назву клону, SEQ ID NO варіабельних ділянок важкого ланцюга та SEQ ID NO варіабельних ділянок легкого ланцюга). Варіабельну ділянку нового L-ланцюга використовували тільки для одного з ланцюгів. Для інших ланцюгів використовували варіабельну ділянку L404, спільний L-ланцюг ACE910 (SEQ ID NO: 45). Для H-ланцюга використовували варіабельну ділянку Q499 (SEQ ID NO: 45) та варіабельну ділянку J327 (SEQ ID NO: 46). Задля зручності назви нових L-ланцюгів використовували як назви клонів. Для антитіла проти FIX(a) використовували QC1 (SEQ ID NO: 95) та CL1 (SEQ ID NO: 99) як константні ділянки H-ланцюга та L-ланцюга, відповідно. Для антитіла проти FX використовували JC1 (SEQ ID NO: 97) та CL3 (SEQ ID NO: 101) як константні ділянки важкого ланцюга та легкого ланцюга, відповідно.

Кожне очищене біспецифічне антитіло застосовували для оцінювання активності заміщувати кофакторну функцію FVIII за допомогою способу, відомого фахівцям у цій галузі. Конкретно, вимірювання виконували за наступним способом. Усі реакції виконували при кімнатній температурі. 5 мкл розчину антитіла, розведеного сольовим розчином з буфером Tris, який містив 0,1% альбумін бичачої сироватки (у цьому описі далі скорочується як TBSB), змішали з 5 мкл фактора IXа бета людини з концентрацією 150 нг/мл (Enzyme Research Laboratories) та інкубували у планшеті з 384 лунками при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Ферментативну реакцію у цій суміші розпочали шляхом додавання 5 мкл фактора X людини з концентрацією 24,7 мкг/мл (Enzyme Research Laboratories). Через 4 хвилини реакцію припинили, додавши 5 мкл 0,5 M EDTA. Реакцію забарвлення розпочали шляхом додавання 5 мкл розчину забарвлення субстрату. Після 30 хвилин реакції забарвлення виміряли зміну в поглинанні при 405 нм, застосовуючи SpectroMax 340PC384 (Molecular Devices). Розчинником фактора IXа бета людини та фактора X людини був TBSB, що містив 4,0 мкМ фосфоліпідного розчину (SYSMEX CO.) та 1,5 мМ CaCl₂. Розчин забарвлення субстрату, S-2222 (SEKISUI MEDICAL), розчинили очищеною водою до 1,47 мг/мл та використовували для аналізу. Результати вимірювання активності заміщувати кофакторну функцію FVIII кожного очищеного біспецифічного антитіла наведено на фіг. 10. Кінцева концентрація антитіла, яка використовувалася у вимірюванні активності заміщувати кофакторну функцію FVIII, показаної на фіг. 10, становила 66,7 мкг/мл для антитіл, утворених новим легким ланцюгом проти FIX(a), або 100 мкг/мл для антитіл, утворених новим легким ланцюгом проти FX. Кінцева концентрація антитіла означає концентрацію у суміші розчину антитіла, фактора IXа бета людини та фактора X людини. Визначили, що усі біспецифічні антитіла, утворені з будь-яким з нових L-ланцюгів, мали активність заміщувати кофакторну функцію FVIII.

Таблиця 7

Біспецифічні антитіла, які мають нові L-ланцюги, які були отримані

Назва клону	SEQ ID NO варіабельної ділянки важкого ланцюга	SEQ ID NO варіабельної ділянки легкого ланцюга
QNK131	45	13
QNK284	45	14
QNK315	45	15
QNL182	45	16
QNL492	45	17
QNL576	45	18
JNK131	46	19
JNK163	46	20
JNK252	46	21
JNK263	46	22
JNK339	46	23
JNK348	46	24
JNK351	46	25
JNK360	46	26
JNK378	46	27
JNK382	46	28
JNL036	46	29
JNL072	46	30
JNL095	46	31
JNL176	46	32
JNL208	46	33
JNL224	46	34
JNL260	46	35
JNL056	46	36
JNL059	46	37
JNL226	46	38
JNL250	46	39
JNL263	46	40
JNL281	46	41

Референтний приклад 2

Отримали варіанти із замінами, у яких усі CDR Q499 та J327, H-ланцюги ACE910, всеосяжним чином піддали мутації шляхом заміни усіма амінокислотами, за винятком цистеїну. Використовуючи ці варіанти та нові L-ланцюги, отримані у референтному прикладі 1, здійснили великомасштабний скринінг стосовно активності заміщувати кофакторну функцію FVIII, щоб визначити амінокислотні заміни, які покращували активність заміщувати кофакторну функцію FVIII. Наприклад, амінокислотні заміни були зроблені у QNK131, новому L-ланцюзі для антитіла проти FIX(a) (варіабельна ділянка: SEQ ID NO: 13), внаслідок чого отримали QAL187 (варіабельна ділянка: SEQ ID NO: 42) та QAL201 (варіабельна ділянка: SEQ ID NO: 43). Подібно до цього амінокислотні заміни були зроблені у JNL095, новому L-ланцюзі для антитіла проти FX (варіабельна ділянка: SEQ ID NO: 31), внаслідок чого отримали JYL280 (варіабельна ділянка: SEQ ID NO: 44). Для антитіла проти FIX(a) використовували QC1 (SEQ ID NO: 95) та CL1 (SEQ ID NO: 99) як константні ділянки H-ланцюга та L-ланцюга, відповідно. Для антитіла проти FX використовували JC1 (SEQ ID NO: 97) та CL3 (SEQ ID NO: 101) як константні ділянки H-ланцюга та L-ланцюга, відповідно.

Результат показав, що деякі амінокислотні заміни, наведені нижче у таблиці 8, можуть покращувати активність ACE910 (еміцизумабу) заміщувати кофакторну функцію FVIII. При вимірюванні активності заміщувати кофакторну функцію FVIII способом, описаний у референтному прикладі 1, застосовували для варіантів з модифікованим H-ланцюгом для антитіла проти FX. Для варіантів з модифікованим H-ланцюгом для антитіла проти FIX(a) виконували вимірювання, застосовуючи спосіб, описаний у референтному прикладі 1, за винятком того, що концентрацію фактора IXa бета людини змінили на 450 нг/мл. Таблиця 8 демонструє специфічну активність

кожного варіанта з амінокислотними замінами відносно ACE910 (еміцизумабу) (кожне значення у таблиці). У таблиці 8 (-) вказує на те, що рівень експресії антитіла був низьким.

Таблиця 8

Активність заміщувати кофакторну функцію FVIII варіантів біспецифічних антитіл, у яких амінокислотну заміну було зроблено у Q499 та J327

Модифікація Н-ланцюга антитіла проти FIX(a)																				
Пози- ція	Мута- ція	A	I	L	M	P	V	G	N	Q	S	T	D	E	H	K	R	F	W	Y
31	Y	0.4	0.0	-	-	0.0	0.0	0.0	0.0	-	1.0	0.0	0.0	0.0	3.5	0.0	0.0	0.0	10.0	/
32	Y	0.6	1.3	0.0	0.0	0.0	1.5	-	1.4	2.0	0.0	6.2	2.2	0.1	0.9	1.2	0.0	6.1	0.6	/
33	D	-	-	-	0.0	-	0.1	-	0.0	-	-	0.2	/	0.1	-	-	-	-	-	-
34	I	1,2	/	10.7	8.9	0.0	0.0	2.4	-	8.0	0.2	2.9	0.2	1.5	0.0	1.1	0.0	41.8	13.2	0.0
35	Q	0.4	4.6	76.2	-	39.0	45.7	73.9	0.0	/	22.8	56.0	0.0	0.1	0.1	1.4	0.0	0.5	0.0	0.1
50	S	5.4	1.0	0.9	4.1	0.0	-	2.8	6.0	0.0	/	0.0	3.3	0.0	-	0.2	0.0	1.2	3.3	1.3
51	I	0.0	/	-	0.0	0.0	2.3	0.0	0.0	-	0.3	0.0	0.0	-	-	0.0	0.0	-	0.0	0.0
52	S	1.1	4.8	0.0	0.0	0.0	3.8	1.0	9.9	8.1	/	-	13.1	0.0	34.0	0.1	-	26.0	8.2	2.0
52a	P	0.4	-	0.7		/	0.1	4.9	0.0	1.6	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	-	0.0	0.0	0.1	1.3
53	S	0.9	0.1	0.3	0.0	0.0	0.0	1.3	0.0	0.0	/	1.4	0.1	0.0	1.3	0.0	0.2	0.3	0.0	0.2
54	G	1.3	0.0	0.0	-	0.0	0.0	/	0.0	0.1	1.2	-	0.0	0.0		0.0	-	-	0.0	0.1
55	Q	0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.2	3.9	0.0	/	-	0.0	-	0.0	4.1	-	7.4	0.0	0.0	0.0
56	S	-	0.0	1.9	13.1	0.2	0.0	3.2	0.0	-	/	0.2	1.1	0.6	6.2	0.8	1.9	0.0	-	25.8
57	T	2.7	2.1	3.0	3.1	0.2	1.7	-	0.9	3.8	2.6	/	0.2	1.6	1.9	4.2	0.7	2.3	1.5	2.0
58	Y	-	1.7	1.9	0.4	-	1.1	0.2	5.0	0.6	0.6	14.7	3.8		3.8	3.6	0.2	4.5	1.5	/
59	Y	0.0	0.5	-	1.0	0.0	1.0	0.0	0.1	-	-		0.0	1.5	-	0.0	0.0	1.0	0.4	/
60	R	3.7	4.1	3.4	3.9	1.2	3.4	2.8	-	4.1	3.5	2.3	-	-	4.1	3.7	/	4.0	0.0	-
61	R	1.8	1.5	1.5	1.6	1.7	1.6	2.0	2.1	2.2	0.0	1.9	1.1	0.7	3.7	-	/	1.7	1.1	-
62	E	3.3	1.1	1.8	1.3	3.4	1.4	4.2	4.8	4.4	5.2	4.5	6.0	/	3.0	3.0	0.0	-	1.6	0.0
63	V	2.9	2.5	3.1	1.3	1.0	/	0.1	0.5	0.1	0.4	1.1	0.5	0.1	3.5	0.1	0.0	4.0	0.5	66
64	K	1.2	1.5	1.3	1.2	0.0	1.1	1.1	1.0	1.2	1.3	1.1	0.4	0.4	1.2	/	4.8	0.0	0.8	1.1
65	G	2.1	4.4	3.0	2.9	0.2	1.2	/	3.5	20.4	2.3	31	3.8	2.5	4.1	1.4	2.7	2.5	3.5	3.3
95	R	0.0	0.4	0.0	-	0.1	0.2	0.0	0.0	1.1	0.0	0.1	-	-	-	1.2	/	0.0	0.0	0.0
96	T	5.5	0.5	0.4	1.6	0.1	1.3	-	3.3	15.0	15.0	/	4.2	1.5	1.6	0.5	0.3	1.3	2.1	2.6
97	G	-	0.1	0.0	0.3	3.1	0.4	/	1.4	0.7	2.1	0.4	11.6	1.8	1.2	0.2	0.1	1.0	1.9	1.1
98	R	4.5	9.0	9.5	5.8	2.2	4.1	5.7	7.7	7.6	5.7	8.1	3.7	4.1	5.8	4.0	/	5.8	3.9	8.2
99	E	3.4	10.4	7.0	5.5	5.8	7.0	1.7	3.0	4.3	4.0	4.8	3.4	/	4.2	2.2	2.0	3.3	1.8	3.6
100	Y	1.6	5.0	1.6	3.3	2.7	3.4	1.2	3.2	1.5	1.3	1.6	3.0	1.5	3.2	1.9	2.2	2.1	3.6	/
100a	G	3.4	1.1	5.1	5.8	0.4	0.6	/	2.7	-	1.7	1.0	2.6	0.9	2.5	6.5	7.1	2.1	2.0	2.7
100b	G	5.3	1.0	0.4	0.4	0.8	0.9	/	1.1	1.0	2.3	1.1	1.4	1.2	0.6	-	0.2	0.0	0.0	0.2
100c	G	0.2	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	/	1.1	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0
100d	W	0.0	0.5	0.3	0.3	0.3	0.6	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	1.4	0.0	0.0	10.3	/	3.6
100e	Y	3.1	4.5	3.7	3.0	0.4	4.9	1.0	5.1	3.2	3.8	5.2	1.7	1.5	9.4	1.1	-	3.1	1.5	/
100f	F	11.7	24.9	7.6	8.6	7.8	23.2	-	18.6	6.3	8.0	11.3	1.3	2.0	0.7	0.0	0.6	/	0.1	0.7
101	D	3.2	4.1	2.1	1.8	8.6	3.9	2.3	3.2	2.6	3.1	2.9	/	2.7	2.4	2.3	2.5	2.1	3.0	2.5
102	Y	4.4	4.1	4.6	4.1	4.6	5.8	6.3	4.3	4.3	2.6	5.9	8.6	6.5	4.6	3.6	3.2	3.9	3.5	/

Модифікація Н-ланцюга антитіла проти FX

Пози- ція	Мута- ція	A	I	L	M	P	V	G	N	Q	S	T	D	m	H	K	R	F	W	Y
31	D	-	8.9	13.0	14.2	-	11.0	15.5	14.7	14.6	15.3	12.5	/	14.0	17.4	12.6	11.2	13.7	13.3	13.6
32	N	10.7	0.4	0.8	5.6	0.3	1.9	3.3	/	4.1	12.5	4.2	0.2	0.8	5.2	3.1	3.5	4.4	1.5	4.3
33	N	0.4	1.8	2.8	1.7	0.0	1.2	1.2	/	1.8	3.4	0.1	0.2	0.0	0.0	1.5	0.1	0.0	0.2	0.0
34	M	2.6	11.0	12.1	/	-	12.4	-	-	-	-	1.6	-	-	7.8	-	-	7.4	1.3	3.4
35	D	3.4	4.2	3.1	6.6	-	5.0	3.5	13.1	11.4	5.0	0.3	/	11.4	6.0	-	-	3.5	4.8	2.3
50	D	3.1	0.3	0.2	0.5	-	2.4	1.2	4.1	1.8	3.9	1.7	/	1.3	0.1	0.1	0.0	0.6	0.0	0.1
51	I	10.2	/	10.3	10.2	-	12.8	1.6	-	9.5	11.5	12.7	0.6	0.7	-	3.1	0.1	4.8	0.7	4.7
52	N	1.8	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.6	/	0.7	2.9	0.0	0.1	0.5	3.5	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0
52a	T	6.0	7.7	4.2	3.9	7.2	9.0	3.2	-	0.9	11.9	/	0.1	0.0	1.0	0.3	0.1	1.5	4.0	0.7
53	R	3.7	7.4	5.0	5.3	3.0	6.9	3.9	12.4	6.0	3.8	0.3	1.4	1.9	7.2	9.8	/	7.4	8.9	5.8
54	S	12.8	4.3	3.6	6.2	0.1	8.0	10.8	5.3	5.4	/	6.3	2.7	1.1	5.8	3.1	4.7	10.1	16.0	12.2
55	G	11.0	6.2	8.3	8.7	3.1	8.0	/	2.7	11.0	12.1	9.2	4.1	6.6	10.4	7.0	7.9	7.6	7.3	6.7
56	G	8.3	11.2	11.4	11.6	-	8.8	/	11.3	13.3	13.3	13.8	4.6	3.2	8.4	10.2	12.3	10.4	13.7	10.3
57	S	11.9	10.9	6.5	12.2	12.1	12.9	13.7	10.6	12.9	/	10.9	6.9	0.7	2.5	0.1	0.3	0.8	3.0	0.1
58	I	5.8	/	7.7	3.9	-	3.7	1.3	6.3	7.2	2.7	11.3	0.1	2.7	3.3	7.5	4.2	4.8	2.6	5.5
59	Y	3.2	11.8	5.9	3.7	0.4	1.3	1.7	5.9	7.8	7.2	9.4	6.7	6.0	12.7	4.0	3.2	4.9	6.0	/
60	N	11.0	9.0	10.4	10.2	5.0	9.6	5.2	/	6.1	2.2	1.1	10.7	4.4	2.2	4.6	10.1	9.8	10.0	11.7
61	E	17.6	12.5	10.8	6.4	6.8	2.3	7.5	2.6	11.1	12.0	7.9	3.6	/	5.3	9.6	6.9	8.1	7.7	6.9
62	E	9.5	9.9	10.6	11.1	9.3	11.6	13.6	13.0	15.2	4.2	2.9	-	/	9.3	9.8	12.6	10.0	13.7	10.9
63	F	12.5	11.3	6.3	12.1	-	12.2	13.1	12.6	10.2	12.3	-	11.3	6.3	15.9	7.8	6.2	/	16.7	16.3
64	Q	16.2	14.7	11.8	16.0	9.7	14.8	15.0	15.0	/	15.8	15.3	14.4	16.2	13.7	14.2	12.4	15.7	13.9	15.5
65	D	14.3	-	12.6	15.5	16.1	-	11.5	15.0	15.4	15.6	14.9	-	14.2	14.8	12.9	14.5	14.9	12.4	14.8
95	R	0.2	0.6	1.6	1.0	0.7	1.0	0.1	0.0	0.8	0.1	0.2	0.0	-	1.2	5.7	/	0.0	0.4	0.3
96	K	3.0	2.0	1.8	4.3	0.0	3.6	1.1	1.0	2.3	1.2	1.7	0.0	1.0	1.7	/	15.7	1.9	1.9	1.4
97	S	14.8	2.2	1.6	5.2	1.4	3.7	10.2	5.4	6.5	/	7.6	2.9	3.9	7.2	3.5	-	3.2	1.5	3.2
98	Y	2.2	1.1	1.9	7.3	0.1	1.4	1.4	1.3	1.9	1.9	1.0	0.2	0.2	8.8	1.5	7.9	6.9	4.2	/
99	G	4.6	-	-	5.2	0.0	0.5	/	7.6	7.6	6.8	1.7	8.8	3.7	6.1	5.7	7.2	6.3	3.7	4.0
100	Y	12.6	8.3	14.5	10.8	6.2	10.9	9.3	12.6	12.9	12.0	11.5	10.9	7.8	12.0	12.8	12.2	13.9	6.5	/
100a	Y	5.9	2.7	5.7	3.5	1.3	7.0	2.8	8.9	3.9	7.1	7.7	3.3	3.9	14.7	2.4	6.7	13.4	11.6	/
100b	I	4.1	10.6	/	12.9	0.6	7.2	0.0	4.8	3.9	1.9	3.1	1.5	0.3	8.0	0.8	0.2	14.8	6.2	11.2
101	D	6.5	5.2	5.4	5.3	6.7	6.8	6.7	6.7	7.0	6.8	6.2	/	7.0	3.4	4.4	4.1	-	-	-
102	E	12.1	11.7	10.8	11.7	6.9	13.3	12.6	11.2	11.3	9.4	10.2	12.5	/	10.3	10.9	10.5	10.5	12.7	12.9

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

- <110> ЧУГАІ СЕЙЯКУ КАБУСІКІ КАЙСЯ (CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA)
- 5 <120> МУЛЬТИСПЕЦИФІЧНА АНТИГЕНЗВ'ЯЗУВАЛЬНА МОЛЕКУЛА, ЯКА МАЄ АКТИВНІСТЬ ЗАМІЩУВАТИ КОФАКТОРНУ ФУНКЦІЮ ФАКТОРА КОАГУЛЯЦІЇ КРОВІ VIII (FVIII), ТА ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ СКЛАД, ЯКИЙ МІСТИТЬ ЗГАДАНУ МОЛЕКУЛУ ЯК АКТИВНИЙ ІНГРЕДІЄНТ
- 10 <130> C1-A1716P
- <150> JP 2017-189647
<151> 2017-09-29
- 15 <160> 287
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- 20 <211> 5
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
- <220>
25 <223> Штучно синтезована послідовність
- <400> 1
- Tyr Tyr Asp Ile Gln
30 1 5
- <210> 2
<211> 17
- 35 <212> PRT
<213> Штучна послідовність
- <220>
40 <223> Штучно синтезована послідовність
- <400> 2
- Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys
45 1 5 10 15
- Gly
- 50 <210> 3
<211> 14
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
- 55 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність
- <400> 3
- 60

Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

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

10 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 4

15 Asp Asn Asn Met Asp
1 5

20 <210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
25 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 5

30 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
1 5 10 15

Asp

35

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
40 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

45 <400> 6

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
1 5 10

50 <210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

55 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 7

60

Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln Leu Ala
1 5 10

5 <210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 8

15 Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser
1 5

20 <210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
25 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 9

Gln Gln Tyr Ser Asp Pro Pro Leu Thr
30 1 5

35 <210> 10
<211> 448
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
40 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 10

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

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

50 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

55 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
50 55 60

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

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

5 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
 325 330 335

 10 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

 15 Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

 20 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

 25 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

 30 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

 35 Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

 40 Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

 45 <210> 11
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 50 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 11

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

 60 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
 20 25 30

 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60

	Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
	65 70 75 80
5	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
	85 90 95
10	Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
	100 105 110
15	Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
	115 120 125
20	Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
	130 135 140
	Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
	145 150 155 160
25	Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
	165 170 175
30	Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
	180 185 190
35	Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
	195 200 205
40	Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
	210 215 220
	Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
	225 230 235 240
45	Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
	245 250 255
50	Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
	260 265 270
55	Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
	275 280 285
60	Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
	290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

5 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335

10 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

15 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365

20 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

25 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415

30 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430

35 Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440

<210> 12
 <211> 214
 <212> PRT
 40 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

45 <400> 12

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

50 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln
 20 25 30

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

60 Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

5 Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp Pro Pro Leu
 85 90 95
 10 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 15 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 20 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 25 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 30 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 35 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 40 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 13
 <211> 106
 45 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 50 <400> 13
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 55 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
 20 25 30

60

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

5 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

10 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80

15 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Arg Pro Leu Thr
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

20 <210> 14
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

25 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

30 <400> 14

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

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

40 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

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

50 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Leu Gly
 85 90 95

55 Ile Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105

60 <210> 15
 <211> 111

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 15

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

Gln Pro Ala Ser Val Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Thr
20 25 30
15

Asp Gly Lys Ala Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

20 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

25 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

30 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Arg
85 90 95

Ile Gln Ala Leu Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105 110
35

<210> 16

<211> 107

<212> PRT

40 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

45 <400> 16

Ser Ser Gly Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

50 Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly His Lys Val Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

55 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

60 Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Ala Ser
50 55 60

5 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Val
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Val Pro Asn Ser Gly Tyr
 85 90 95
 10 Val Phe Gly Thr Gly Thr Gln Val Thr Val Val
 100 105
 15 <210> 17
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 20 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 17
 25 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 30 Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Ser Tyr
 20 25 30
 35 Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Met Ile Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60
 40 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80
 45 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
 85 90 95
 50 Ser Thr Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110
 55 <210> 18
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 60

<400> 18

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

5

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly His Lys Val Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

10

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

15

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Ala Ser
50 55 60

20

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Val
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ala Trp Val Pro Asn Ser Gly Tyr
85 90 95

25

Val Phe Gly Thr Gly Thr Gln Val Thr Val Val
100 105

30

<210> 19

<211> 107

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

35

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 19

40

Asn Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

45

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

50

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

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

55

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

60

Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys Asn Phe Pro Trp
85 90 95

5 Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Phe Lys
100 105

10 <210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 20

20 Asn 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 Ser Ile Arg Ser Tyr
20 25 30

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

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

35 Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

40 Glu Asp Phe Ala Val Tyr His Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Ile Pro Trp
85 90 95

45 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

50 <210> 21
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 21

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

60

Asp Lys Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Gly Thr Ser
 20 25 30

5 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

10 Phe Asp Thr Ser Asn Leu Glu Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

15 Ser Lys Ser Glu Thr Tyr Phe Thr Phe Ala Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Asn Ile Pro Trp
 85 90 95

20 Thr Phe Gly Arg Gly Thr Lys Val Glu Ile Thr
 100 105

25 <210> 22
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

30 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 22

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

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

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

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

50 Gly Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
 65 70 75 80

55 Asp Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp
 85 90 95

60 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

5 <210> 23
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 10 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 15 <400> 23
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

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

 25 Asn Ser Val Ser Arg Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Thr Gly
 50 55 60

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

 35 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Ser Thr Pro Trp
 85 90 95

 40 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Val Glu Ile Lys
 100 105

 45 <210> 24
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 50 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 55 <400> 24
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

 60 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
 20 25 30

 Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Gln Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

5 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

10 Glu Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile
 65 70 75 80

15 Ser Arg Val Glu Ala Asp Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
 85 90 95

20 210> 25
 211> 108
 212> PRT
 213> Штучна послідовність

25 220>
 223> Штучно синтезована послідовність

 400> 25

30 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

35 Glu Ser Gly Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Thr Arg
 20 25 30

40 Tyr Leu Ala Trp Tyr Tyr Gln Arg Pro Gly Gln Val Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

 Ile Tyr Gly Thr Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

45 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80

50 Pro Gly Asp Ser Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Ser Ser Gln
 85 90 95

55 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

60 210> 26
 211> 107
 212> PRT
 213> Штучна послідовність

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

5 <400> 26

Val Ile Trp Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

10

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

15

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

20

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

25

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Phe Pro Trp
85 90 95

30

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Val Lys
100 105

35

<210> 27

<211> 107

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

40

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 27

45

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

50

Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

55

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

60

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

5 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala His Ser Phe Pro Trp
85 90 95

10 Ser Phe Gly Pro Gly Thr Asn Val Glu Ile Lys
100 105

15 <210> 28
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

20 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність
<400> 28

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

30 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Lys Trp
20 25 30

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

40 Asp Ser Ala Thr Asn Leu Arg Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

50 Glu Asp Leu Ala Phe Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Lys Ser Phe Pro Trp
85 90 95

55 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

60 <210> 29
<211> 110
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Штучно синтезована послідовність
<400> 29

Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

5 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

10 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

15 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

20 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95

25 Ser Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

30 <210> 30
<211> 106
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

35 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 30

40 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Leu Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Pro Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Asn Lys Asn Val
20 25 30

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

50 Arg Asp Thr Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

55 Asn Ser Gly His Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

60 Asp Glu Ala Asp Tyr Ser Cys Gln Val Trp Asp Ser Gly Thr Val Val
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 5
 <210> 31
 <211> 107
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 15 <400> 31
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln
 1 5 10 15
 20
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
 20 25 30
 25 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45
 30 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
 65 70 75 80
 35
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Ala Val
 85 90 95
 40
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
 100 105
 45 <210> 32
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 50 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 32
 55 Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Ala Ala Pro Gly Gln Arg
 1 5 10 15
 Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn His Leu
 20 25 30
 60

Val Ser Trp His Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Ala Leu Ile
 35 40 45
 5
 Tyr Asp Asn Asp Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 10
 Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Asp Ile Thr Gly Leu Gln Thr
 65 70 75 80
 15 Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Ala Ser Leu Arg
 85 90 95
 20 Ala Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105
 <210> 33
 <211> 111
 25 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 33
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 35
 Arg Val Thr Val Ser Cys Asn Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Thr Gly
 20 25 30
 40
 Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Ile
 35 40 45
 45 Val Ile Phe Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe
 50 55 60
 50 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Val Ile Ala Gly Leu
 65 70 75 80
 55 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Ser
 85 90 95
 60 Leu Ser Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 34
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 5
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 34
 10
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 15 Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Arg Tyr
 20 25 30
 Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val
 20 35 40 45
 Met Ile Tyr Asp Val Ile Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe
 50 55 60
 25
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80
 30
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Ala
 85 90 95
 35 Ser Ser Phe Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110
 <210> 35
 40 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 45 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 35
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 50 1 5 10 15
 Arg Val Asn Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Ala Asn Asn
 20 25 30
 55
 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Thr Val Pro Lys Val Leu
 35 40 45
 60

Ile Ser Asp Asn Asp Gln Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

5 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

10 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Arg Met
85 90 95

Arg Gly Phe Val Phe Gly Ser Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

15

<210> 36
<211> 110
<212> PRT
20 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

25 <400> 36

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

30 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

35 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
40 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

45 Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95

50 Ser Ala Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

55 <210> 37
<211> 110
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

60 <220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 37

5 Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Arg Gln
1 5 10 15

10 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Arg
20 25 30

15 Ala Val Ser Trp Tyr Gln His Val Pro Gly Lys Pro Pro Arg Leu Ile
35 40 45

20 Val Tyr His Asp Asp Val Leu Ser Ser Gly Val Ser Gly Arg Phe Ser
50 55 60

Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

25 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ala Ala Trp Asp Ala Arg Leu
85 90 95

30 Asn Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 38

<211> 109

35 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

40

<400> 38

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

45

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

50

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

55 Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

60 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

5 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
 85 90 95
 Ser Thr Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105
 10 <210> 39
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 15 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 39
 20 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 25 Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
 20 25 30
 30 Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Thr Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
 50 55 60
 35 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ser Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80
 40 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Ser
 85 90 95
 45 Gly Thr Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Leu
 100 105 110
 50 <210> 40
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 55 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 40
 60 Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15

5 Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
 20 25 30
 Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 10 Met Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 15 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80
 20 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Arg
 85 90 95
 Arg Gly Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110
 25
 <210> 41
 <211> 109
 <212> PRT
 30 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 35 <400> 41
 Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Ala Ser Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 40 Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Phe Tyr
 20 25 30
 45 Lys Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Tyr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Met Ile Tyr Asp Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 50 55 60
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80
 55 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
 85 90 95
 60

Asn Thr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

5 <210> 42
<211> 106
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 42

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

20 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

30 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

35 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Pro Leu Thr
85 90 95

40 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

45 <210> 43
<211> 106
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

50 <400> 43

55 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

60 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Arg Asn
20 25 30

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

5 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

10 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80

15 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Pro Leu Thr
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

20 <210> 44
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

25 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

30 <400> 44

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln
 1 5 10 15

35 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
 20 25 30

40 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60

45 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
 65 70 75 80

50 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
 85 90 95

55 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
 100 105

60 <210> 45
 <211> 123

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 45

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

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

20 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
50 55 60

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

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

35 Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 46

<211> 119

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 46

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

55 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
20 25 30

60 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60
 5
 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 10
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95
 15 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 20 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 47
 <211> 107
 25 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 47
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 35
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln
 20 25 30
 40
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile
 35 40 45
 45 Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 50 Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp Pro Pro Leu
 85 90 95
 55
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 60

<210> 48
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 5
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 48
 10
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
 20 25 30
 20 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
 50 55 60
 25
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 30
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 35 Ala Arg Arg Ser Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
 100 105 110
 40 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 49
 <211> 123
 45 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 50
 <400> 49
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 55 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
 20 25 30
 60

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 5 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
 50 55 60
 10 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr 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
 15 Ala Arg Arg Ser Gly His Asn Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
 100 105 110
 20 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 25 <210> 50
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 30 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 50
 35 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
 40 20 25 30
 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 45 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60
 50 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 55 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95
 60 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr His Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 5
 <210> 51
 <211> 119
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 15 <400> 51
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 20 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
 20 25 30
 25 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 30 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60
 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Gly Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 35 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr His Cys
 85 90 95
 40 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 45 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 50 <210> 52
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 55 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 52
 60 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln
 20 25 30
 5
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile
 35 40 45
 10
 Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 15 Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 20 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Pro Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 25
 <210> 53
 <211> 107
 <212> PRT
 30 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 35 <400> 53
 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 Lys Ala Ser Lys Asn Ile Glu Arg Asn
 20 25 30
 45 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asp Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 50 55 60
 Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 55
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Pro Pro Leu
 85 90 95
 60

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

5 <210> 54
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 54

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

20 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Asn
20 25 30

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

Tyr Arg Ala Asp Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

30 Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

35 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Pro Pro Leu
85 90 95

40 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

45 <210> 55
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 55

55 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 Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Asn
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile
 35 40 45
 5 Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 10 Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 15 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Pro Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 20 <210> 56
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 56
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 35 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
 20 25 30
 40 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 45 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 50 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 55 Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Asp Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
 100 105 110
 60 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

5 <210> 57
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 10 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 57

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

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

 Asp Ala Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 25

 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
 50 55 60
 30

 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 35

 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 40

 Ala Arg Arg Thr Gly Ser Glu Asp Gly Ala Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
 100 105 110
 45

 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 50

 <210> 58
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 50 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 58

 55 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 60

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

Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 5
 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
 50 55 60
 10
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr 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
 20
 Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Asp Gly Gly Trp His Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 25
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 59
 <211> 122
 <212> PRT
 30 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 35 <400> 59
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 40
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
 20 25 30
 45
 Asp Ile Gln Trp Val Arg Glu Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 50
 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
 50 55 60
 55
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 60
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

5 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

10 <210> 60
<211> 122
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 60

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

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

25 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

30 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
50 55 60

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

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

45 Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

50 <210> 61
<211> 106
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

55 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 61

60

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

5 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Arg Asp
 20 25 30

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

15 Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80

20 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Pro Leu Thr
 85 90 95

25 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

30 <210> 62
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

35 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 62

40 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15

45 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp
 20 25 30

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

50 Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

55 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80

60 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 5
 <210> 63
 <211> 106
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 15 <400> 63
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 20
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp
 20 25 30
 25
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile
 35 40 45
 30
 Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 35
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr
 85 90 95
 40
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 45 <210> 64
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 50 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 64
 55 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 60
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
 20 25 30

5 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 10 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 15 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Leu Thr
 85 90 95
 20 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 65
 <211> 107
 25 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 65
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 35 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
 20 25 30
 40 Leu Ala Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 45 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 50 65 70 75 80
 Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95
 55 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 60

<210> 66
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 5
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 66
 10
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
 20 25 30
 20
 Leu Ala Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 25
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 30
 Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95
 35
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 40
 <210> 67
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 45
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 67
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 50 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp
 20 25 30
 55
 Leu Ala Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 60

Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

5 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80

10 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95

15 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 68
 <211> 107
 <212> PRT
 20 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

25 <400> 68

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

30 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
 20 25 30

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

40 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

45 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95

50 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

55 <210> 69
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

60 <220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 69

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

10 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

20 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

25 Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

30 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 70

<211> 107

35 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

40

<400> 70

45 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

55 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

60 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

5 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95

 10 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

 <210> 71
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 15 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 71
 20 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15

 25 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
 20 25 30

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

 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 35 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
 65 70 75 80

 40 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95

 45 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

 50 <210> 72
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 55 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 72

 60 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15

5 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp
 20 25 30

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

 15 Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

 20 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
 65 70 75 80

 25 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95

 30 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

 <210> 73
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 35 <400> 73

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

 45 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
 20 25 30

 50 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

 55 Gly Asp Ser Asn Thr Arg Ser Gly Thr Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60

 60 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

5 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

10 <210> 74
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 74

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Asn
20 25 30

25

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

30

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

35 Gln Asn Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

40 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95

45 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

50 <210> 75
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

55 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 75

60

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

 5 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
 20 25 30

 10 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

 15 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Val Ile Ser Asn Glu Glu Phe
 50 55 60

 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

 20 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95

 25 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
 100 105 110

 30 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

 <210> 76
 <211> 119
 35 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 40
 <400> 76

 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 45

 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
 20 25 30

 50 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

 55 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60

 60 Gln Gln Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95
 5
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 10
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 15 <210> 77
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 20 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 77
 25 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 30 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
 20 25 30
 35 Asn Met Asp Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60
 40 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 45 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95
 50 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 55 <210> 78
 <211> 119
 <212> PRT
 60 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

5 <400> 78

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

10

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Thr His Asn
20 25 30

15

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

20

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

25

Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Ile Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95

30

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

35

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 79

40 <211> 119

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

45 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 79

50

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
20 25 30

55

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

60

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60

5 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

10 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95

15 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

20 <210> 80
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

25 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

30 <400> 80

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

35 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
 20 25 30

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

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60

45 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

50 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95

55 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
 100 105 110

60 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 81
 <211> 119
 5 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 10
 <400> 81

 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
 20 25 30
 20
 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 25 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 30 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Glu Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95
 35
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 40
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 45 <210> 82
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 50 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 82
 55 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Thr His Asn
 20 25 30
 60

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 5
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Arg Glu Phe
 50 55 60
 10
 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Ile Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 15 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95
 20 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 25
 <210> 83
 <211> 119
 <212> PRT
 30 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 35 <400> 83
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 40 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
 20 25 30
 45 Asn Met Asp Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 50 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60
 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 55 Met Glu Leu Ser Glu Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95
 60

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

5 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

10 <210> 84
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 84

20 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln
1 5 10 15

25 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

30 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

35 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

40 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
85 90 95

45 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

50 <210> 85
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

55 <400> 85

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln
1 5 10 15

60

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
20 25 30

5 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

10 Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

15 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

20 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

25 <210> 86
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 86

35 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln
1 5 10 15

40 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Thr Gly Asn His Ile Ser Asp Lys His Val
20 25 30

45 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

50 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

55 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Thr
85 90 95

60 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

<210> 87
 <211> 106
 5 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 10
 <400> 87

 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln
 1 5 10 15
 15
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Ser Gln Lys Gln Val
 20 25 30
 20
 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45
 25
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60
 30
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
 65 70 75 80
 35
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ala Val Val
 85 90 95
 40
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
 100 105
 45
 <210> 88
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 50
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 55
 <400> 88
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 60
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
 20 25 30
 His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60
 5

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
 65 70 75 80
 10

Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
 85 90 95
 15

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
 100 105
 20

<210> 89
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 89

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 30

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Gly Ser Arg Glu Val
 20 25 30
 35

His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45
 40

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60
 45

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
 65 70 75 80
 50

Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val
 85 90 95
 55

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
 100 105
 60

<210> 90
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

5 <400> 90

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

10

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

15

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

20

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

25

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
85 90 95

30

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

35

<210> 91

<211> 107

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

40

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 91

45

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

50

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

55

His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
 65 70 75 80

5 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
 85 90 95

10 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
 100 105

15 <210> 92
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

20 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 92

25 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15

30 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
 20 25 30

35 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

40 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60

45 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
 65 70 75 80

50 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
 85 90 95

55 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
 100 105

60 <210> 93
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 93

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

5 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Gly Glu Lys Glu Val
20 25 30

10 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

15 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

20 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val
85 90 95

25 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

30 <210> 94
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

35 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 94

40 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

45 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

50 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

55 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

60 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
100 105

5

<210> 95
<211> 325
<212> PRT
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

15 <400> 95

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

20 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

25 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

35 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

40 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

45 Glu Phe Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
50 130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

55 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

60

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190

5 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205

10 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220

15 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255

20 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270

25 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285

30 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300

35 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro
 325

40 <210> 96
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

45 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

50 <400> 96

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

55 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

60 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 5
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 10
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 15 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 20 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 25
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 30
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 165 170 175
 35 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 40 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 45
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 50
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 55 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 60 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 5
 Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
 305 310 315 320
 10
 Leu Ser Leu Ser Pro
 325
 15 <210> 97
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 20 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 97
 25 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 30 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 40
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 45 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 50 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Glu Phe Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 55 115 120 125
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 60

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160

5 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 165 170 175

10 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190

15 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205

20 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220

25 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240

30 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255

35 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270

40 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285

45 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300

50 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser
 305 310 315 320

55 Leu Ser Leu Ser Pro
 325

<210> 98
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 98

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

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

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 5
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 10
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 15 Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu
 305 310 315 320
 20 Leu Ser Leu Ser Pro
 325
 <210> 99
 <211> 107
 25 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 99
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 35
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 20 25 30
 40
 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
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 55
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105
 60

<210> 100
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 5
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 100
 10 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 1 5 10 15
 15 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Glu 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
 20 35 40 45
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 25 50 55 60
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 65 70 75 80
 30 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 85 90 95
 35 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 100 105
 <210> 101
 40 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 45 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 101
 Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
 50 1 5 10 15
 Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
 20 25 30
 55 Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
 35 40 45
 60

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

5 Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

10 Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

15 Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 102
<211> 106
<212> PRT
20 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

25 <400> 102

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

30 Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

35 Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

40 Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

45 Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

50 Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

55 <210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

60 <220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 103

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

10 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

15 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Glu Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

20 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

25 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

30 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 104

<211> 106

35 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

40

<400> 104

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

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

50 Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

55 Val Lys Ala Gly Val Arg Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

60 Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
 85 90 95
 5
 Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 100 105
 10
 <210> 105
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 15
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 105
 20
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 25 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser His Tyr
 20 25 30
 30 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
 50 55 60
 35
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 40
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 45 Ala Arg Arg Thr Asp Arg Glu Asp His Gly Trp Ile Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 50 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 106
 <211> 122
 55 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 60

<400> 106

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

5

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

10

Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

15

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
50 55 60

20

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

25

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

Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

30

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

35

<210> 107

<211> 325

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

40

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 107

45

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

50

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

55

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

5 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

10 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110

15 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125

20 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140

25 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160

30 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 165 170 175

35 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190

40 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205

45 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220

50 Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240

55 Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255

60 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
305 310 315 320

5 Leu Ser Leu Ser Pro
325

10 <210> 108
<211> 107
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 108

20 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

25 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30

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

30 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

35 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

40 Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

45 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

50 <210> 109
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

55 <400> 109

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
20 25 30

5 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

10 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

15 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

20 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95

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

25 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

30 <210> 110
<211> 325
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

35 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 110

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

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

45 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

55 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

60 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 5
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 10
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 15
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 20
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 165 170 175
 25
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 30
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 35
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Cys Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 40
 Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 45
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 50
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser
 275 280 285
 55
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 60
 Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Pro
 325

<210> 111
 <211> 107
 5 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 10
 <400> 111

 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 15
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
 20 25 30
 20
 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45
 25 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60
 30 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
 65 70 75 80
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
 85 90 95
 35
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
 100 105
 40
 <210> 112
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 112
 50
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 55 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr
 20 25 30
 60 Asp Ile Gln Trp Val Arg Glu Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

5 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 10 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 15 Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 20 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 113
 <211> 107
 25 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 113
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 35 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
 20 25 30
 40 Leu Ala Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile
 35 40 45
 45 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 50 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95
 55 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 60

<210> 114
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 5
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 114
 10
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 15 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
 20 25 30
 Asn Met Asp Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 20 35 40 45
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60
 25
 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 30
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95
 35 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 40 115
 <210> 115
 <211> 107
 45 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 50
 <400> 115
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 55
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
 20 25 30
 60

His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45
 5 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60
 10 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
 65 70 75 80
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
 85 90 95
 15 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val
 100 105
 20 <210> 116
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 116
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 35 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 45 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 50 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 55 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 60 115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 5
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 10
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 165 170 175
 15 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 20 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 25 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 30 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 35 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 40 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 45 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu
 305 310 315 320
 50 Leu Ser Leu Ser Pro
 325
 55 <210> 117
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 60 <220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 117

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

10 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

15 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

20 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

25 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

30 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

35 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

40 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

45 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

50 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

55 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

60 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240

 5 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255

 10 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270

 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 15

 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300

 20 Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
 305 310 315 320

 25 Leu Ser Leu Ser Pro
 325

 30 <210> 118
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 35 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 118

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

 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
 20 25 30
 45

 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

 50 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

 55 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

 60 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 5
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 10
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 15
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 20
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 165 170 175
 25
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 30
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 35
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 40
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 45
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 50
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 55
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 60
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 65
 Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu
 305 310 315 320
 70
 Leu Ser Leu Ser Pro
 325

<210> 119
 <211> 325
 5 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 10
 <400> 119

 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 20
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 25
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 30
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 35
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 40
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 45
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 50
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 165 170 175
 55
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 60

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

5 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

10 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

15 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

20 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

25 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

30 Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
305 310 315 320

35 Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 120
<211> 448
<212> PRT
40 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

45 <400> 120

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

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

55 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

60 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
50 55 60

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

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

5

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335

10

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

15

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

20

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

25

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

30

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His
420 425 430

35

Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

40

<210> 121
<211> 448
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

45

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 121

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

50

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

55

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

60

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
50 55 60

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

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

15 Ala Arg Arg Thr Gly Ser Glu Asp Gly Ala Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

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

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

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

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

35 Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190

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

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

45 Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly
225 230 235 240

50 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

55 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

60

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

5 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

10 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
 325 330 335

15 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

20 Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

25 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

30 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

35 Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His
 420 425 430

40 Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

<210> 122
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

45 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

50 <400> 122

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

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

60 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
 50 55 60
 5
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 10
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 15 Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Asp Gly Gly Trp His Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 20 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 130 135 140
 25
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 30
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 35 Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 40 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
 210 215 220
 45
 Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 50
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 55 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
 260 265 270
 60 Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 5

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

10 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
 325 330 335

15 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350

20 Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

25 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

30 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

35 Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
 420 425 430

40 Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

<210> 123
 <211> 447
 45 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

50 <400> 123

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

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

60

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

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

5 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

10 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

15 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

20 Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

25 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

30 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

35 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

40 Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

45 <210> 124
<211> 447
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

50 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 124

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

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

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

5 Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 10 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 15 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
 325 330 335
 20 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 25 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 30 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 35 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 40 Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
 420 425 430
 45 Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 <210> 125
 <211> 447
 <212> PRT
 50 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 55 <400> 125
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

60

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

5 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

10 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Thr Asp Arg Glu Asp His Gly Trp Ile Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

30 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

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

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

40 Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

45 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

50 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

55 Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

60

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

5 Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

10 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

15 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
325 330 335

20 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

25 Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

30 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

35 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

40 Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

45 Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

50 <210> 126
<211> 213
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

55 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 126

60 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

5 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Arg Asp
 20 25 30
 10 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 15 Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 20 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 25 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Pro Leu Thr
 85 90 95
 30 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 35 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 40 Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 45 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 50 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 55 Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 60 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 65 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 70 <210> 127
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 75 <220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 127

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

10 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

20 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

25 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr
85 90 95

30 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

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

35 Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

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

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

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

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

55 Asn Arg Gly Glu Cys
210

60

<210> 128
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 5
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 128
 10
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp
 20 25 30
 20
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 25
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 30
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr
 85 90 95
 35
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 40
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 45
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 50
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 55
 Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 60
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 5
 <210> 129
 <211> 213
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 15 <400> 129
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 20
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
 20 25 30
 25
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 30
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 35
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Leu Thr
 85 90 95
 40
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 45
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 50 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 55
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 60

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

5 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

10 Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 130
<211> 214
15 <212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність
20
<400> 130

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
25

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30
30

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

35 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
40 65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly 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

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

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
60 145 150 155 160

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

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

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

 20 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

 <210> 131
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 25 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 131

 30 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15

 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
 20 25 30
 35

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

 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

 45 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80

 Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95
 50

 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 55

 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 60

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

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

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

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

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

20 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

25 <210> 132
<211> 214
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

30 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 132

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

40 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

55 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
35

<210> 133
<211> 214
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
40

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність
45

<400> 133
50

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
55

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
20 25 30
60

Leu Ala Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
65

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly
50 55 60
70

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80
75

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95

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

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

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

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 Glu 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
 210

<210> 134
 <211> 214
 <212> PRT
 40 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

45 <400> 134

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

50 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
 20 25 30

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

60 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

5 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Met Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95
 10 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 15 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 20 Thr Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 25 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 30 Ser Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 35 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 40 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 45 <210> 135
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 50 <400> 135
 55 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
 20 25 30

60

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

5 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

15 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

45 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

50 <210> 136
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

55 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 136

60 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15

5 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu
 20 25 30
 10 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile
 35 40 45
 15 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 20 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
 65 70 75 80
 25 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
 85 90 95
 30 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 35 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 40 Thr Ala Glu Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 45 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 50 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 55 Ser Thr Leu Glu Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 60 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 65 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 70 <210> 137
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 75 <220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 137

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

10 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

20 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

25 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

60

<210> 138
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 5
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 138
 10 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 15 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
 20 25 30
 20 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 25 Gly Asp Ser Asn Thr Arg Ser Gly Thr Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60
 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 30 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95
 35 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 40 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 45 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 50 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 55 Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 60 195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220
 5
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 10
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 15
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 20
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 25
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 30
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 35
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 40
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 45
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 50
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 55
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 60
 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440

<210> 139
 <211> 444
 5 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 10
 <400> 139

 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Asn
 20 25 30
 20
 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 25
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60
 30
 Gln Asn Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 35
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95
 40
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 45
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 50
 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 55
 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 60
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

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

5 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

10 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

15 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

20 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

25 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

30 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

35 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

40 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

45 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

50 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

55 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
420 425 430

60

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

5 <210> 140
<211> 444
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 140

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

20 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
20 25 30

25 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Val Ile Ser Asn Glu Glu Phe
50 55 60

30 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

35 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95

40 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

45 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

50 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

60 Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 5

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220
 10

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 20

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 25

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 30

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 35

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 40

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 45

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 50

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 55

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 60

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 65

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 70

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 75

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

5

<210> 141
<211> 444
<212> PRT
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

15 <400> 141

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

20 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
20 25 30

25 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

30 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

Gln Gln Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

35 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95

40 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

45 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
50 130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

60

Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

5 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205

10 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220

15 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255

20 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270

25 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285

30 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300

35 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335

40 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

45 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365

50 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380

55 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415

60

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
420 425 430

5 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

10 <210> 142
<211> 444
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

15 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 142

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

25 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
20 25 30

30 Asn Met Asp Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

35 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

40 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95

45 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

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

50 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

55 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

5 Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

 10 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205

 15 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220

 20 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

 25 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255

 30 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270

 35 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285

 40 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300

 45 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

 50 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335

 55 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

 60 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365

 65 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380

 70 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

 75 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415

5 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
 420 425 430

 10 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440

 15 <210> 143
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 20 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 143

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

 30 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Thr His Asn
 20 25 30

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

 40 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60

 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Ile Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

 45 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95

 50 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
 100 105 110

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

 55 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

 60

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 5 Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 10 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 15 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 20 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 25 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 30 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 35 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 40 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 45 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 50 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 55 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 60

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

5 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
420 425 430

10 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

15 <210> 144
<211> 444
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

20 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність
<400> 144

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

30 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
20 25 30

35 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

40 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

45 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

50 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95

55 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

60 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

65 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

60 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 5
 Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 10
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 15
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220
 20
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 25
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 30
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 35
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 40
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 45
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 50
 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 55
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 60
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 5
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 10
 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440
 15 <210> 145
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 20 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 145
 25 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 30 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
 20 25 30
 35 Asn Met Asp Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60
 40 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 45 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95
 50 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 55 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 60

	Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
	145 150 155 160
5	Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
	165 170 175
10	Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
	180 185 190
15	Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
	195 200 205
20	Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
	210 215 220
	Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
	225 230 235 240
25	Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
	245 250 255
30	Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
	260 265 270
35	Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
	275 280 285
40	Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
	290 295 300
	Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
	305 310 315 320
45	Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
	325 330 335
50	Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
	340 345 350
55	Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
	355 360 365
60	Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
	370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

5 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

10 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
420 425 430

15 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 146
<211> 444
<212> PRT
20 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

25 <400> 146

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

30 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
20 25 30

35 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

40 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

45 Met Glu Leu Ser Glu Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95

50 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val Trp Gly Glu Gly
100 105 110

55 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

60 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 5
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 10
 Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 15 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 20 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220
 25 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 30 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 35 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 40 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 45 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 50 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 55 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 60 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380

5 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 10 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 15 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440
 20 <210> 147
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 147
 30 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Thr His Asn
 20 25 30
 35 Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 40 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Arg Glu Phe
 50 55 60
 45 Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Ile Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 50 85 90 95
 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 55 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 60

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

5 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

15 Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

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

20 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

25 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

30 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

35 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

40 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

45 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

50 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

55 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

60

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380

 5 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 10 405 410 415

 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
 15 420 425 430

 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440

 20
 <210> 148
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 148
 30
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

 35 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gln Asn
 20 25 30

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

 Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
 50 55 60
 45

 Gln Asp Arg Leu Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

 50
 Met Glu Leu Ser Glu Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
 85 90 95

 55 Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
 100 105 110

 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 60 115 120 125

5 Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

 10 Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

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

 20 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205

 25 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
 210 215 220

 30 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240

 35 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255

 40 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270

 45 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285

 50 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300

 55 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320

 60 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335

 65 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350

 70 Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365

5 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 10 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 15 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 20 Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440
 <210> 149
 <211> 213
 25 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 149
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln
 1 5 10 15
 35 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
 20 25 30
 40 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45
 45 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60
 50 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
 65 70 75 80
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
 85 90 95
 55 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
 100 105 110
 60

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

5 Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

10 Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

15 Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

20 Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

25 Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
195 200 205

30 Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 150
<211> 213
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

35 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 150

40 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln
1 5 10 15

45 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val
20 25 30

50 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

55 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

60 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
 100 105 110
 5
 Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
 115 120 125
 10
 Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
 130 135 140
 15
 Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
 145 150 155 160
 20
 Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
 165 170 175
 25
 Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
 180 185 190
 30
 Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
 195 200 205
 35
 Pro Thr Glu Cys Ser
 210
 40
 <210> 151
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 151
 50
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln
 1 5 10 15
 55
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Thr Gly Asn His Ile Ser Asp Lys His Val
 20 25 30
 60
 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45
 Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
 65 70 75 80

5 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Thr
 85 90 95

10 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
 100 105 110

15 Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
 115 120 125

20 Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
 130 135 140

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
 145 150 155 160

25 Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
 165 170 175

30 Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
 180 185 190

35 Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
 195 200 205

40 Pro Thr Glu Cys Ser
 210

<210> 152
 <211> 212
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

45 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

50 <400> 152

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Arg Gly Gln
 1 5 10 15

55 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Ser Gln Lys Gln Val
 20 25 30

60 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60
 5
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Ala Gly
 65 70 75 80
 10
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ala Val Val
 85 90 95
 15 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala Ala
 100 105 110
 20 Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
 115 120 125
 Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
 130 135 140
 25 Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
 145 150 155 160
 30 Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
 165 170 175
 35 Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
 180 185 190
 40 Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro
 195 200 205
 Thr Glu Cys Ser
 210
 45
 <210> 153
 <211> 213
 <212> PRT
 50 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 55 <400> 153
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 60

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

5 His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

10 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

15 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
85 90 95

20 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

25 Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

30 Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

35 Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

40 Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

45 Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
195 200 205

50 Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 154
<211> 212
55 <212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність
60

<400> 154

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 5
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Gly Ser Arg Glu Val
 20 25 30
 10
 His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45
 15
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60
 20
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
 65 70 75 80
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val
 85 90 95
 25
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala Ala
 100 105 110
 30
 Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
 115 120 125
 35
 Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
 130 135 140
 40
 Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
 145 150 155 160
 Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
 165 170 175
 45
 Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
 180 185 190
 50
 Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro
 195 200 205
 55
 Thr Glu Cys Ser
 210

<210> 155

60 <211> 213

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 155

10 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Val Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

15 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 25 30

His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
35 40 45

20 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

25 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

30 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
85 90 95

35 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

40 Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

45 Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

50 Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

55 Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

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

60

Pro Thr Glu Cys Ser
210

5 <210> 156
<211> 213
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 156

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
20 20 25 30

His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Ile Tyr
35 40 45
25

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
50 55 60

30 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
65 70 75 80

35 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
100 105 110
40

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

45

Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

50

Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

55 Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190
60

5 Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
 195 200 205
 Pro Thr Glu Cys Ser
 210
 10 <210> 157
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 15 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 157
 20 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 25 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
 20 25 30
 30 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Ile Tyr
 35 40 45
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60
 35 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
 65 70 75 80
 40 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
 85 90 95
 45 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
 100 105 110
 Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
 50 115 120 125
 Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
 130 135 140
 55 Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
 145 150 155 160
 60

Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
 165 170 175

5 Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
 180 185 190

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

15 Pro Thr Glu Cys Ser
 210

20 <210> 158
 <211> 212
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

25 <400> 158

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

30 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Asn Gln Ile Gly Glu Lys Glu Val
 20 25 30

35 His Trp Tyr His Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45

40 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60

45 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
 65 70 75 80

Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val
 85 90 95

50 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala Ala
 100 105 110

55 Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
 115 120 125

60 Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
 130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
 145 150 155 160
 5
 Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
 165 170 175
 10
 Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
 180 185 190
 15
 Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro
 195 200 205
 20
 Thr Glu Cys Ser
 210
 <210> 159
 <211> 213
 25 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 159
 Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
 1 5 10 15
 35
 Thr Ala Thr Ile Thr Cys Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val
 20 25 30
 40
 His Trp Tyr His Glu Arg Pro Gly Gln Ala Pro Ile Leu Val Met Phe
 35 40 45
 45
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Leu Ser Gly Ser
 50 55 60
 50
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Ala Glu Ala Gly
 65 70 75 80
 55
 Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr
 85 90 95
 60
 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Val Gly Gln Pro Lys Ala
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala
115 120 125

5 Asn Lys Ala Lys Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala
130 135 140

10 Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val
145 150 155 160

15 Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser
165 170 175

Ser Tyr Leu Lys Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr
180 185 190

20 Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala
195 200 205

25 Pro Thr Glu Cys Ser
210

30 <210> 160
<211> 123
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

35 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 160

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

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

45 Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

50 Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
100 105 110

5

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

10

<210> 161
<211> 119
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

15

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

20

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

25

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
20 25 30

30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

35

Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60

40

Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

45

Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110

50

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

55

<210> 162
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

60

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 162
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala
 1 5 10
 5
 <210> 163
 <211> 7
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 15 <400> 163
 Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
 1 5
 20
 <210> 164
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 164
 Gln Gln Tyr Lys Arg Pro Leu Thr
 1 5
 35 <210> 165
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 40 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 165
 45 Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val His
 1 5 10
 50
 <210> 166
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 166
 60 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
 1 5

5 <210> 167
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 10 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 167

 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Ala Val Val
 1 5 10
 15

 20 <210> 168
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 25 <400> 168

 Tyr Tyr Asp Ile Gln
 1 5
 30
 <210> 169
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 35
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 169
 40
 Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys
 1 5 10 15

 45 Gly

 50 <210> 170
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 55 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 170

 Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Asp Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
 60 1 5 10

5 <210> 171
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 10 <400> 171

 Tyr Tyr Asp Ala Gln
 1 5
 15

 <210> 172
 <211> 17
 <212> PRT
 20 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 25 <400> 172

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

 30
 Gly

 35 <210> 173
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 40 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 173

 45 Arg Thr Gly Ser Glu Asp Gly Ala Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

 50 <210> 174
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 55 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 174

 Tyr Tyr Asp Ile Gln
 60 1 5

5 <210> 175
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 10 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 175

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

 15 Gly

 20
 <210> 176
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 25 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 176

 30 Arg Thr Gly Arg Glu Asp Gly Gly Trp His Phe Asp Tyr
 1 5 10

 35 <210> 177
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 40 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 177

 45 Tyr Tyr Asp Ile Gln
 1 5

 50 <210> 178
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 55 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 178

 60 Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys
 1 5 10 15

Gly

5

<210> 179
 <211> 13
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

15 <400> 179

Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr
 1 5 10

20

<210> 180
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

25

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 180

30

Tyr Tyr Asp Ile Gln
 1 5

35

<210> 181
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

40

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 181

45

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

Gly

50

<210> 182
 <211> 13
 55 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

60

<400> 182
 Arg Thr Gly Arg Glu Glu Gly Gly Trp Ile Phe Asp Tyr
 1 5 10
 5
 <210> 183
 <211> 5
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 15 <400> 183
 His Tyr Asp Ile Gln
 1 5
 20
 <210> 184
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 184
 Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val Lys
 1 5 10 15
 35 Gly
 40
 <210> 185
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 185
 Arg Thr Asp Arg Glu Asp His Gly Trp Ile Phe Asp Tyr
 50 1 5 10
 55
 <210> 186
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 60
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 186
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala
 1 5 10
 5
 <210> 187
 <211> 7
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 15 <400> 187
 Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr
 1 5
 20
 <210> 188
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 188
 Gln Gln Tyr Lys Ser Pro Leu Thr
 1 5
 35 <210> 189
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 40 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 189
 45 Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala
 1 5 10
 50 <210> 190
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 190
 60 Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr
 1 5

5 <210> 191
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 10 <400> 191

 Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr
 1 5
 15

 <210> 192
 <211> 11
 <212> PRT
 20 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 25 <400> 192

 Arg Ala Thr Gln Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala
 1 5 10
 30
 <210> 193
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 35
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 193
 40
 Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr
 1 5

 45 <210> 194
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 50 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 194

 55 Gln Gln Tyr Arg Ser Pro Leu Thr
 1 5

 60 <210> 195
 <211> 11

<212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 5 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 195

 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
 10 1 5 10

 <210> 196
 <211> 7
 15 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 20
 <400> 196

 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
 1 5
 25

 <210> 197
 <211> 8
 <212> PRT
 30 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 35 <400> 197

 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Leu Thr
 1 5

 40
 <210> 198
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 198
 50
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
 1 5 10

 55 <210> 199
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 60 <220>

<223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 199
 5 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
 1 5
 <210> 200
 10 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 15 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 200
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
 20 1 5
 <210> 201
 <211> 11
 25 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 30 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 201
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
 35 1 5 10
 <210> 202
 <211> 7
 <212> PRT
 40 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 45 <400> 202
 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
 1 5
 50 <210> 203
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 203
 60

Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
1 5

5 <210> 204
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 204

15 Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala
1 5 10

20 <210> 205
<211> 7
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
25 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 205

30 Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr
1 5

35 <210> 206
<211> 9
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
40 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 206

Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
1 5

45 <210> 207
<211> 11
<212> PRT
50 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

55 <400> 207

Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
1 5 10

60

5 <210> 208
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 208
 10 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
 1 5
 15 <210> 209
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 20 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 209
 25 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
 1 5
 30 <210> 210
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 35 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 210
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
 40 1 5 10
 <210> 211
 <211> 7
 45 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 50 <400> 211
 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
 1 5
 55 <210> 212
 <211> 9
 <212> PRT
 60 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 5 <400> 212
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
 1 5
 10
 <210> 213
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 15
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 213
 20
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
 1 5 10
 25 <210> 214
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 30 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 214
 35 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
 1 5
 40
 <210> 215
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 215
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
 50 1 5
 55
 <210> 216
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 60
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 216
 Arg Ala Ser Arg Ser Val Arg Arg Glu Leu Ala
 1 5 10
 5
 <210> 217
 <211> 7
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 15 <400> 217
 Gly Ala Ser Thr Arg Glu Thr
 1 5
 20
 <210> 218
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 30 <400> 218
 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
 1 5
 35 <210> 219
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 40 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 219
 45 Arg Ala Thr Arg Ser Val Arg Arg Asp Leu Ala
 1 5 10
 50 <210> 220
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 220
 60 Gly Ala Ser Arg Arg Glu Thr
 1 5

5 <210> 221
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 10 <400> 221

 Gln Gln Tyr Arg Asp Pro Pro Gly Thr
 1 5
 15

 <210> 222
 <211> 5
 <212> PRT
 20 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 25 <400> 222

 Asp Asn Asn Met Asp
 1 5
 30
 <210> 223
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 35
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 223
 40
 Asp Ser Asn Thr Arg Ser Gly Thr Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
 1 5 10 15

 45 Asp

 50 <210> 224
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 55 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 224

 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
 60 1 5 10

5 <210> 225
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 10 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 15 <400> 225
 Asn Asn Asn Met Asp
 1 5

 20 <210> 226
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 25 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 30 <400> 226
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
 1 5 10 15

 35 Asn

 40 <210> 227
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 45 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 227

 50 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val
 1 5 10

 55 <210> 228
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 60 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 228
 Asp Asn Asn Met Asp
 1 5

5 <210> 229
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 10 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 15 <400> 229
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Val Ile Ser Asn Glu Glu Phe Gln
 1 5 10 15
 Asp

 20 <210> 230
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 30 <400> 230
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10

 35 <210> 231
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 40 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 231

 45 Gln Asn Asn Met Asp
 1 5

 50 <210> 232
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 55 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 232

 60 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
 1 5 10 15

Gln

5

<210> 233

<211> 10

<212> PRT

10 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

15 <400> 233

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val

1 5 10

20

<210> 234

<211> 5

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

25

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 234

30

Gln Asn Asn Met Asp

1 5

35

<210> 235

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

40

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 235

45

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln

1 5 10 15

Asp

50

<210> 236

<211> 10

55

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

60

<400> 236
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val
 1 5 10
 5
 <210> 237
 <211> 5
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 15 <400> 237
 His Asn Asn Met Asp
 1 5
 20
 <210> 238
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 238
 30 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
 1 5 10 15
 35 Asp
 <210> 239
 40 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 45 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 239
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val
 50 1 5 10
 <210> 240
 <211> 5
 55 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 60

<400> 240
 Gln Asn Asn Met Asp
 1 5
 5
 <210> 241
 <211> 17
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 15 <400> 241
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
 1 5 10 15
 20 Asp
 25 <210> 242
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 30 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 242
 35 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val
 1 5 10
 40 <210> 243
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 45 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 243
 Gln Asn Asn Met Asp
 50 1 5
 <210> 244
 <211> 17
 55 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 60

<400> 244

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
1 5 10 15

5

Asp

10

<210> 245

<211> 10

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

15

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 245

20

Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
1 5 10

25

<210> 246

<211> 5

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

30

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 246

35

Gln Asn Asn Met Asp
1 5

40

<210> 247

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

45

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 247

Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Lys Phe Gln
1 5 10 15

50

Asp

55

<210> 248

<211> 10

<212> PRT

60

<213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 5 <400> 248
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Val
 1 5 10
 10
 <210> 249
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 15
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 249
 20
 His Asn Asn Met Asp
 1 5
 25
 <210> 250
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 30
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 250
 35 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Arg Ser Ile Tyr Asn Arg Glu Phe Gln
 1 5 10 15
 40 Asp
 <210> 251
 <211> 10
 45 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 50
 <400> 251
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
 1 5 10
 55
 <210> 252
 <211> 5
 <212> PRT
 60 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 5 <400> 252
 Gln Asn Asn Met Asp
 1 5
 10
 <210> 253
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 15
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 253
 20
 Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Val Ile Tyr Asn Glu Glu Phe Gln
 1 5 10 15
 25 Asp
 <210> 254
 30 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 35 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 254
 Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu
 40 1 5 10
 <210> 255
 <211> 11
 45 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 50
 <400> 255
 Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val His
 1 5 10
 55
 <210> 256
 <211> 7
 <212> PRT
 60 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 5 <400> 256
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
 1 5
 10
 <210> 257
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 15
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 257
 20
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
 1 5 10
 25 <210> 258
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 30 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 258
 35 Glu Gly Asn His Ile Gly Asp Lys His Val His
 1 5 10
 40 <210> 259
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 45 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 259
 Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser
 50 1 5
 <210> 260
 <211> 10
 55 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 60

<400> 260
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
 1 5 10
 5
 <210> 261
 <211> 11
 <212> PRT
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 15 <400> 261
 Thr Gly Asn His Ile Ser Asp Lys His Val His
 1 5 10
 20
 <210> 262
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 25
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 262
 30
 Gln Asp Ala Arg Arg Pro Ser
 1 5
 35 <210> 263
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 40 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 263
 45 Gln Val Trp Asp Ser Ser Asp Tyr Thr Val
 1 5 10
 50
 <210> 264
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 264
 60 Glu Gly Asn Gln Ile Ser Gln Lys Gln Val His
 1 5 10

5 <210> 265
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 10 <400> 265

 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
 1 5
 15

 <210> 266
 <211> 9
 <212> PRT
 20 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 25 <400> 266

 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ala Val Val
 1 5

 30
 <210> 267
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 35
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 267
 40
 Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His
 1 5 10

 45 <210> 268
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 50 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 268

 55 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
 1 5

 60 <210> 269
 <211> 10

<212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 5 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 269

 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
 10 1 5 10

 <210> 270
 <211> 11
 15 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 20
 <400> 270

 Glu Gly Asn Gln Ile Gly Ser Arg Glu Val His
 1 5 10
 25

 <210> 271
 <211> 7
 <212> PRT
 30 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 35 <400> 271

 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
 1 5
 40
 <210> 272
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність

 <400> 272
 50
 Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val
 1 5

 55 <210> 273
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

 60 <220>

<223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 273
 5 Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His
 1 5 10
 <210> 274
 10 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 15 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 274
 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
 20 1 5
 <210> 275
 <211> 10
 25 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 30 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 275
 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
 1 5 10
 35 <210> 276
 <211> 11
 <212> PRT
 40 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 45 <400> 276
 Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His
 1 5 10
 50 <210> 277
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 55 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 277
 60

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

5 <210> 278
<211> 10
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 278

15 Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
1 5 10

20 <210> 279
<211> 11
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
25 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 279

30 Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His
1 5 10

35 <210> 280
<211> 7
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
40 <223> Штучно синтезована послідовність

<400> 280

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
1 5

45

50 <210> 281
<211> 10
<212> PRT
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Штучно синтезована послідовність

55 <400> 281

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val
1 5 10

60

5 <210> 282
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 282
 10 Glu Gly Asn Gln Ile Gly Glu Lys Glu Val His
 1 5 10
 15 <210> 283
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 20 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 283
 25 Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser
 1 5
 30 <210> 284
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 35 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 284
 40 Gln Val Trp Ala Ser Asp Ala Val Val
 1 5
 45 <210> 285
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність
 50 <220>
 <223> Штучно синтезована послідовність
 <400> 285
 55 Glu Gly Glu Gln Ile Gly Ser Lys Glu Val His
 1 5 10
 60 <210> 286
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

5 <400> 286

Arg Asp Ala Arg Arg Pro Ser

1 5

10

<210> 287

<211> 10

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

15

<220>

<223> Штучно синтезована послідовність

<400> 287

20

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Tyr Thr Val

1 5 10

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

25

1. Біспецифічне антитіло, яке має функцію заміщувати функцію фактора коагуляції крові VIII, яке включає важкий ланцюг першого антитіла і легкий ланцюг першого антитіла, які зв'язуються з фактором згортання крові IX та/або з активованим фактором згортання крові IX, і важкий ланцюг другого антитіла і легкий ланцюг другого антитіла, які зв'язуються з фактором згортання крові X, де біспецифічне антитіло являє собою біспецифічне антитіло за будь-яким з від (a) до (t) нижче:

30

(a) біспецифічне антитіло, яке включає варіабельну ділянку важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 56, варіабельну ділянку легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 61, варіабельну ділянку важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 73, і варіабельну ділянку легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 84;

35

(b) біспецифічне антитіло, яке включає варіабельну ділянку важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 57, варіабельну ділянку легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 62, варіабельну ділянку важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 73, і варіабельну ділянку легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 84;

40

(c) біспецифічне антитіло, яке включає варіабельну ділянку важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 58, варіабельну ділянку легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 63, варіабельну ділянку важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 74, і варіабельну ділянку легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 85;

45

(d) біспецифічне антитіло, яке включає варіабельну ділянку важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 58, варіабельну ділянку легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 64, варіабельну ділянку важкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 74, і варіабельну ділянку легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 85;

50

(e) біспецифічне антитіло, яке включає варіабельну ділянку важкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 57, варіабельну ділянку легкого ланцюга першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 62, варіабельну ділянку важкого ланцюга другого антитіла,

55

що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 75, і варіабельну ділянку легкого ланцюга другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 86;

60

[illegible]

[illegible]

(p) біспецифічне антитіло, яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 123, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 135, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 145, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 156;

(q) біспецифічне антитіло, яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 124, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 136, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 144, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 155;

(r) біспецифічне антитіло, яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 124, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 136, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 146, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 157;

(s) біспецифічне антитіло, яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 124, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 134, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 147, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 158;

(t) біспецифічне антитіло, яке включає важкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 125, легкий ланцюг першого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 137, важкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 148, і легкий ланцюг другого антитіла, що включає амінокислотну послідовність за SEQ ID NO: 159.

4. Виділена нуклеїнова кислота, яка кодує біспецифічне антитіло за будь-яким з пп. 1-3.

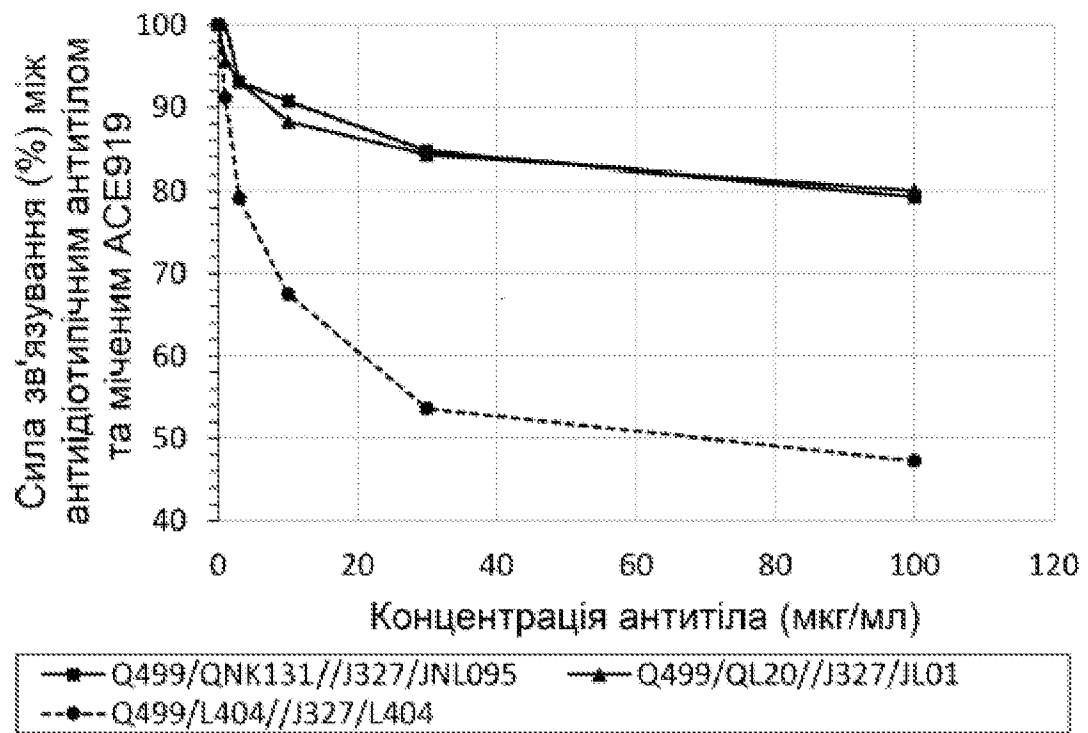
5. Клітина-хазяїн, яка містить нуклеїнову кислоту за п. 4.

6. Фармацевтичний склад, який містить біспецифічне антитіло за будь-яким з пп. 1-3 і фармацевтично прийнятний носій.

7. Фармацевтичний склад за п. 6, який призначений для застосування в профілактиці та/або лікуванні кровотечі, хвороби, яка супроводжує кровотечу, або хвороби, що спричиняється кровотечею.

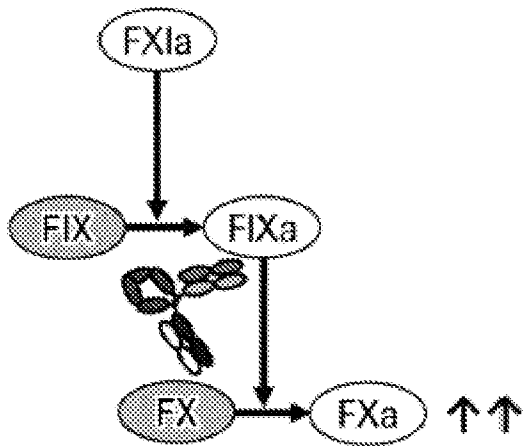
8. Фармацевтичний склад за п. 7, де кровотеча, хвороба, яка супроводжує кровотечу, або хвороба, що спричиняється кровотечею, являють собою хворобу, яка розвивається та/або прогресує внаслідок зниження або дефіциту активності фактора згортання крові VIII та/або активованого фактора згортання крові VIII.

9. Фармацевтичний склад за п. 8, де хвороба, яка розвивається та/або прогресує внаслідок зниження або дефіциту активності фактора згортання крові VIII та/або активованого фактора згортання крові VIII, являє собою гемофілію А, хворобу з появою інгібітору проти фактора згортання крові VIII та/або активованого фактора згортання крові VIII, набуту гемофілію або хворобу Вілебранда.

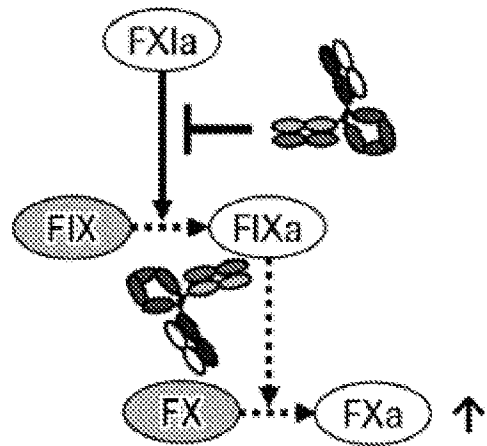


Фіг. 1

1). Коли активність пригнічувати активацію FIX є низькою

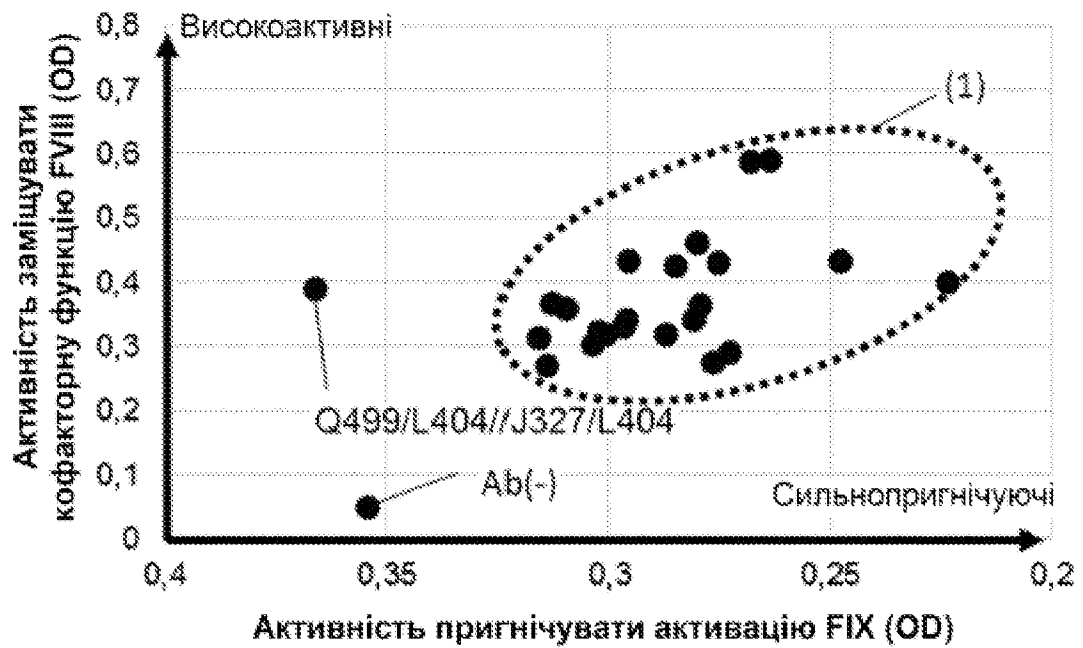


2). Коли активність пригнічувати активацію FIX є високою

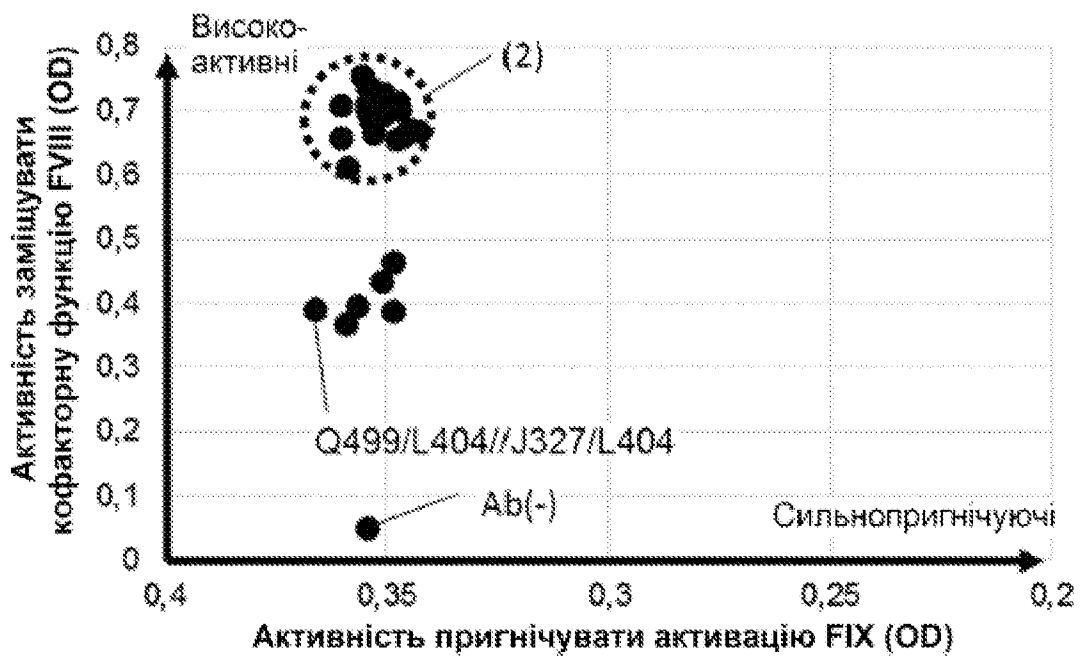


Фіг. 2

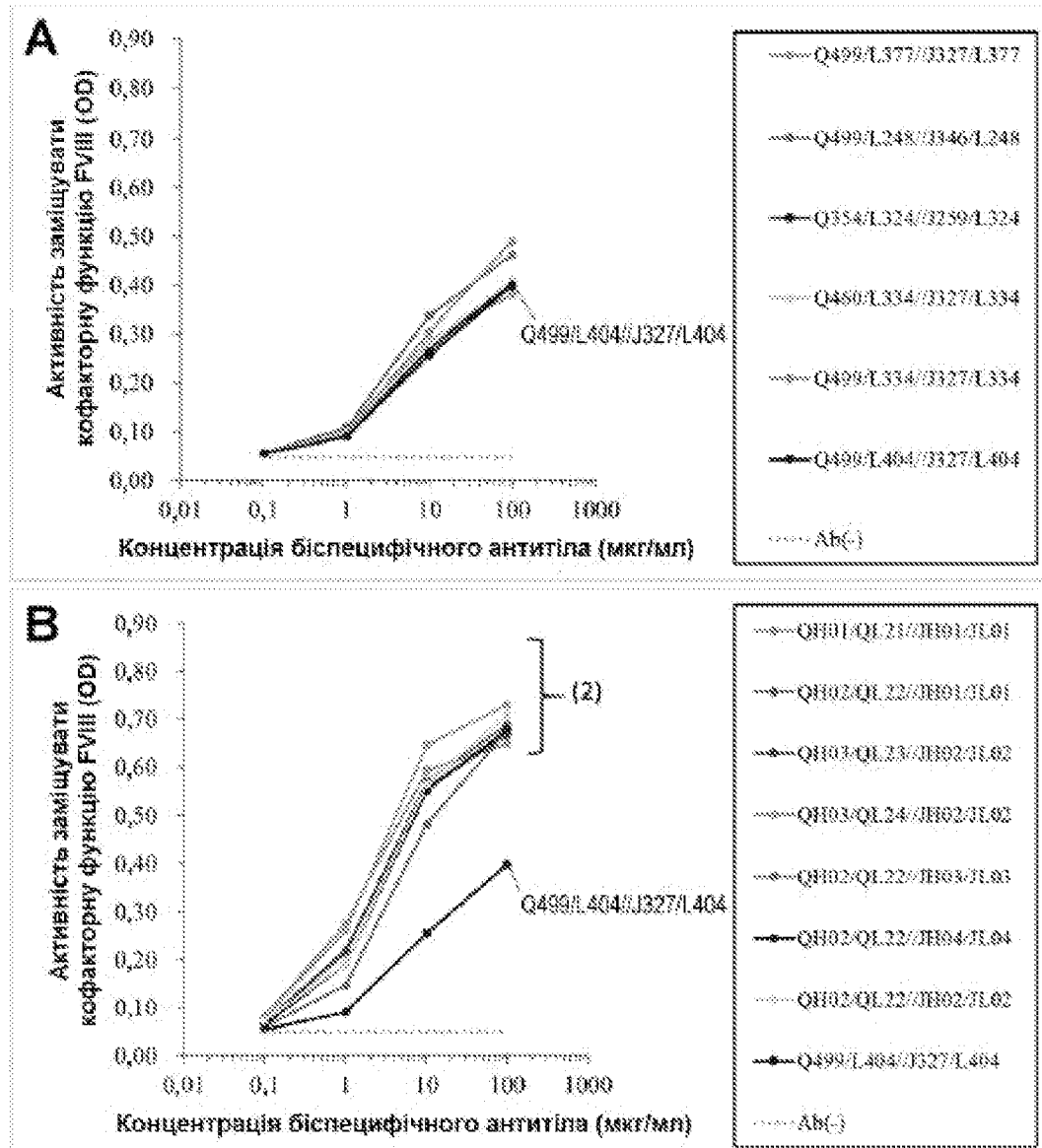
(1)



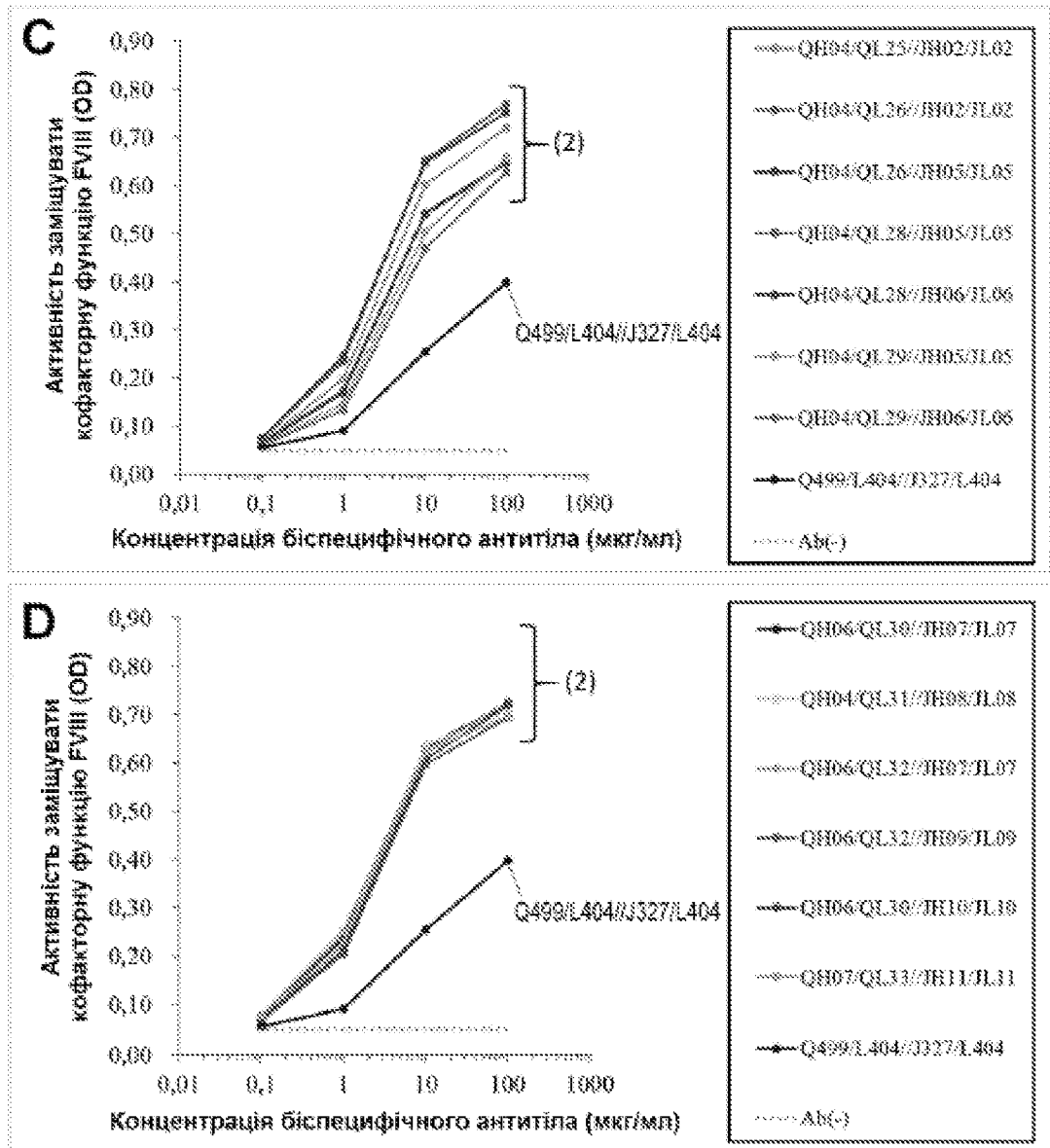
(2)



Фіг. 3



Фиг. 4 - 1



Фіг. 4 - 2

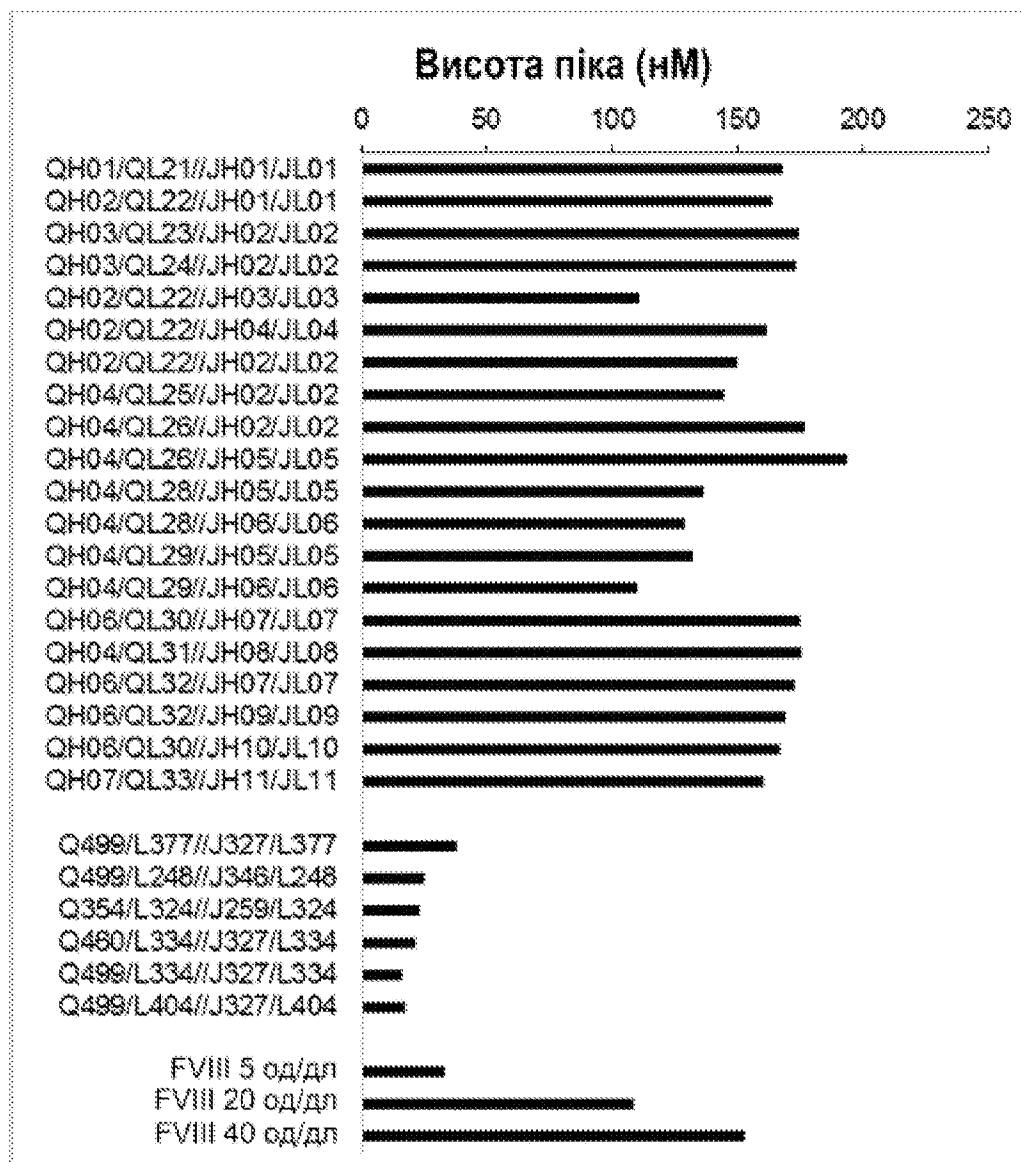
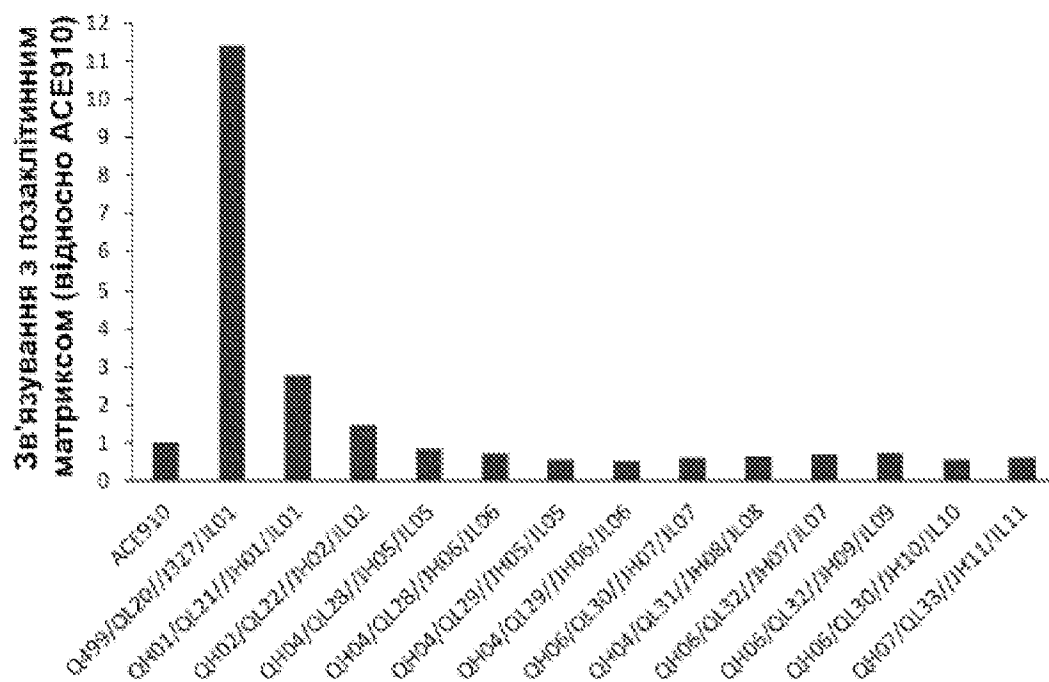
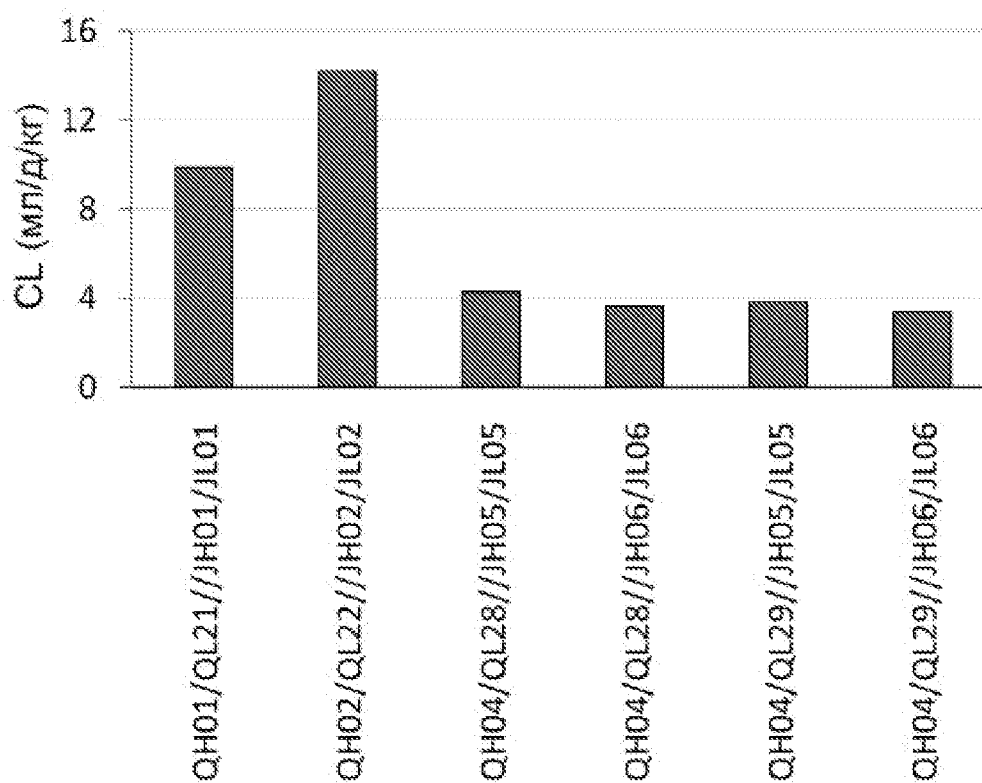


Fig. 5



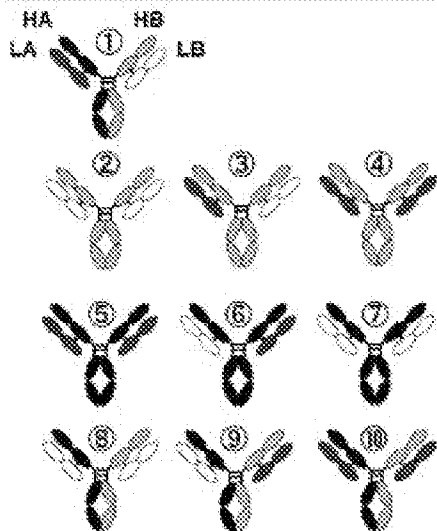
Фіг. 6



Фіг. 7

Комбінації незбіжних пар,
які теоретично можуть
експресуватися

№	Назва	№	Назва
①	HA/LA/HB/LB	⑥	HA/LB/HA/LA
②	HB/LB/HB/LB	⑦	HA/LB/HA/LB
③	HB/LA/HB/LB	⑧	HA/LB/HB/LB
④	HB/LA/HB/LA	⑨	HA/LB/HB/LA
⑤	HA/LA/HA/LA	⑩	HA/LA/HB/LA

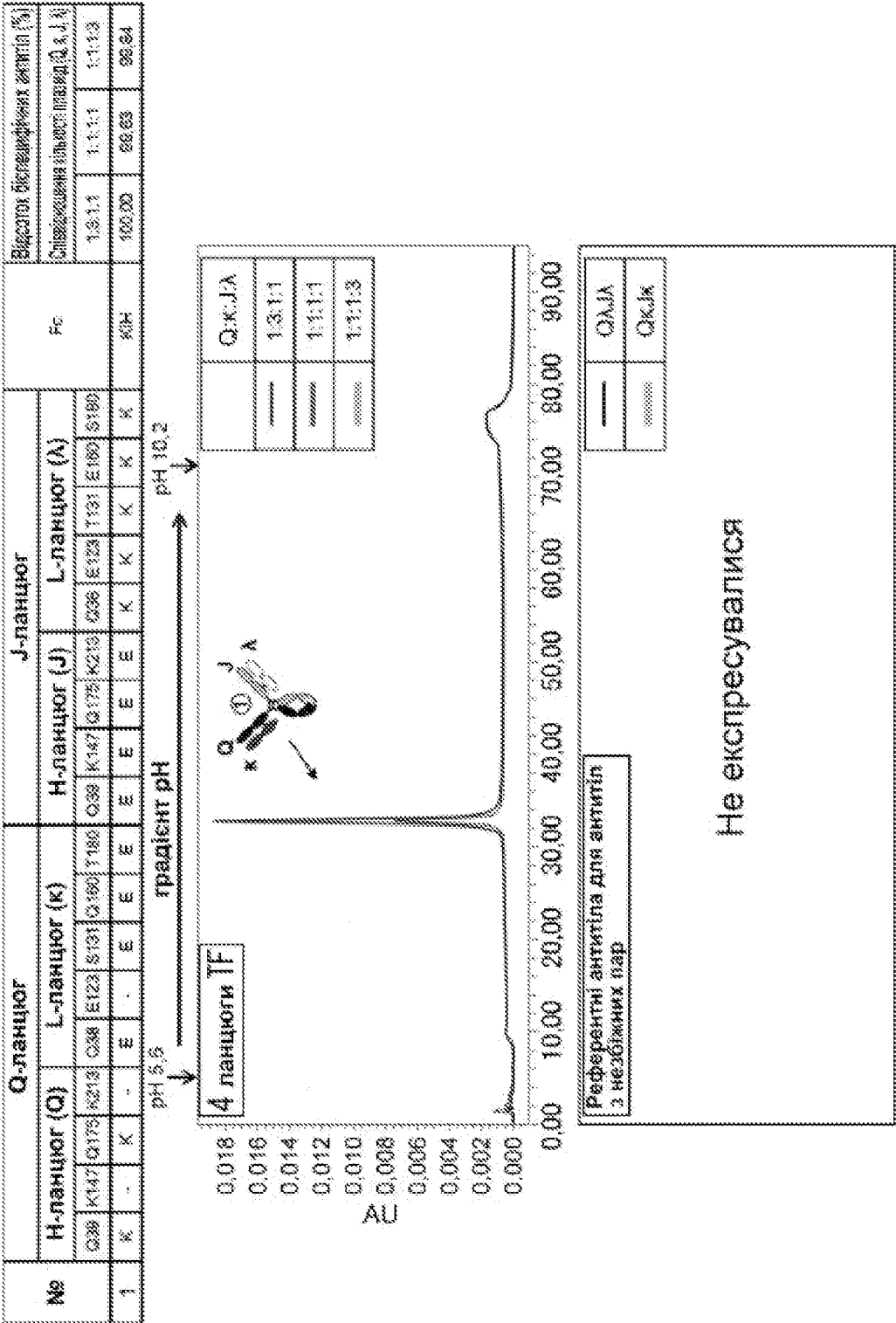


Комбінації незбіжних пар
після введення модифікації
"виступ у западину"

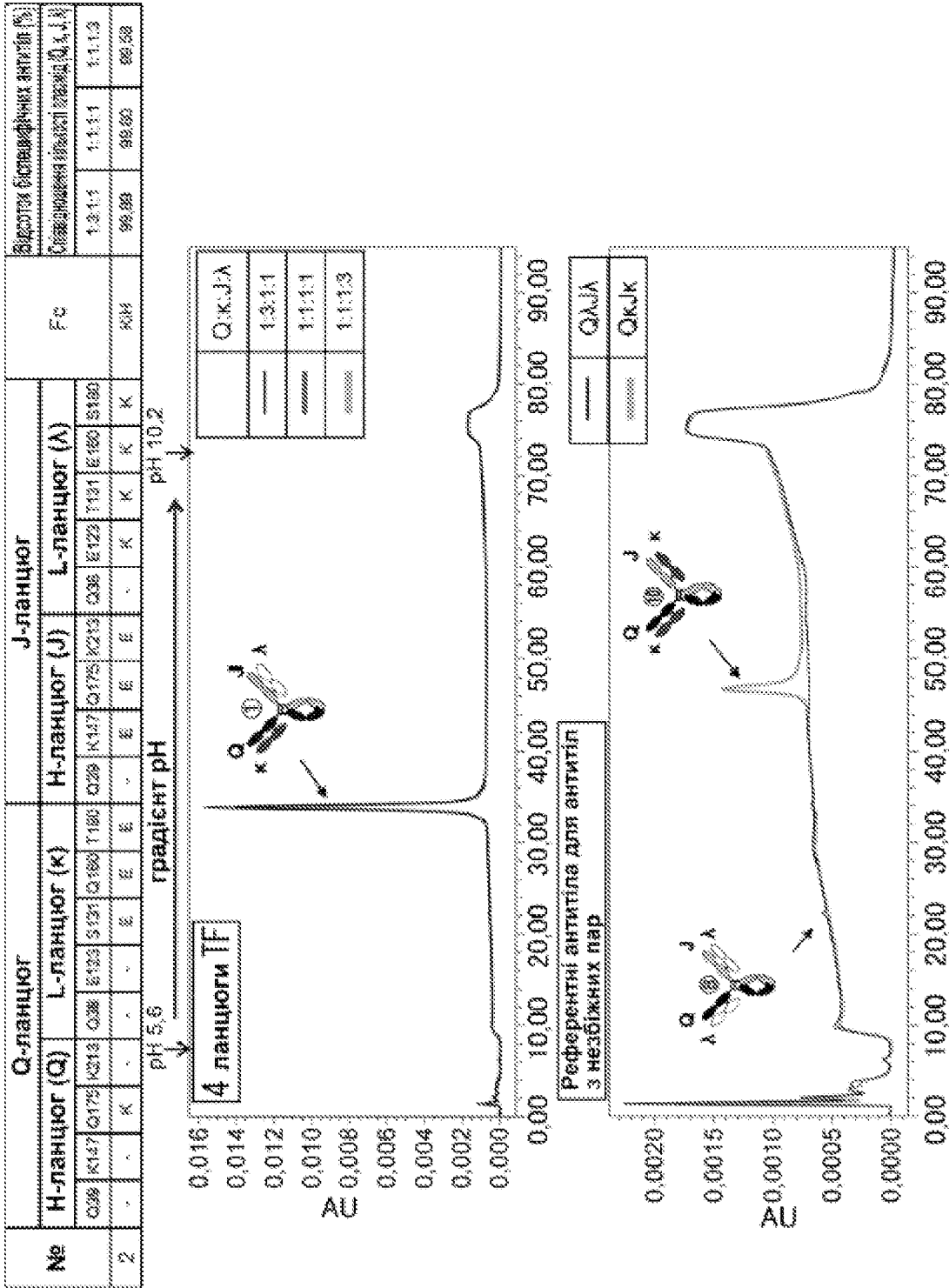
№	Назва	№	Назва
①	Q/K/L/JA	⑥	Q/M/Q/K
②	J/K/L/JA	⑦	Q/M/Q/A
③	J/K/L/JA	⑧	Q/M/L/JA
④	J/K/L/JK	⑨	Q/M/L/JK
⑤	Q/K/L/Q/K	⑩	Q/K/L/JK



Фіг. 8



Фіг. 9 - 1



Фиг. 9 - 2

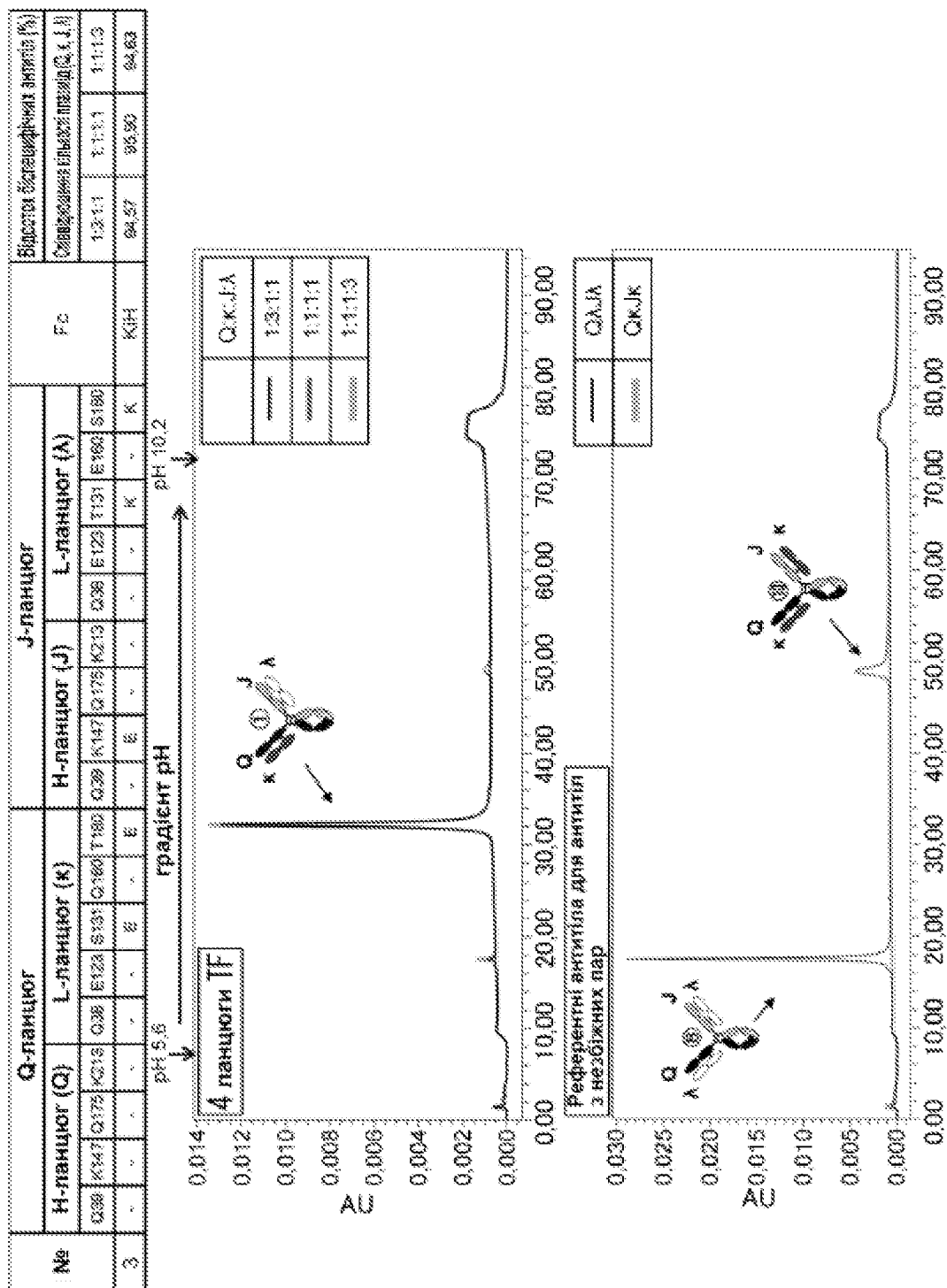


Fig. 9 - 3

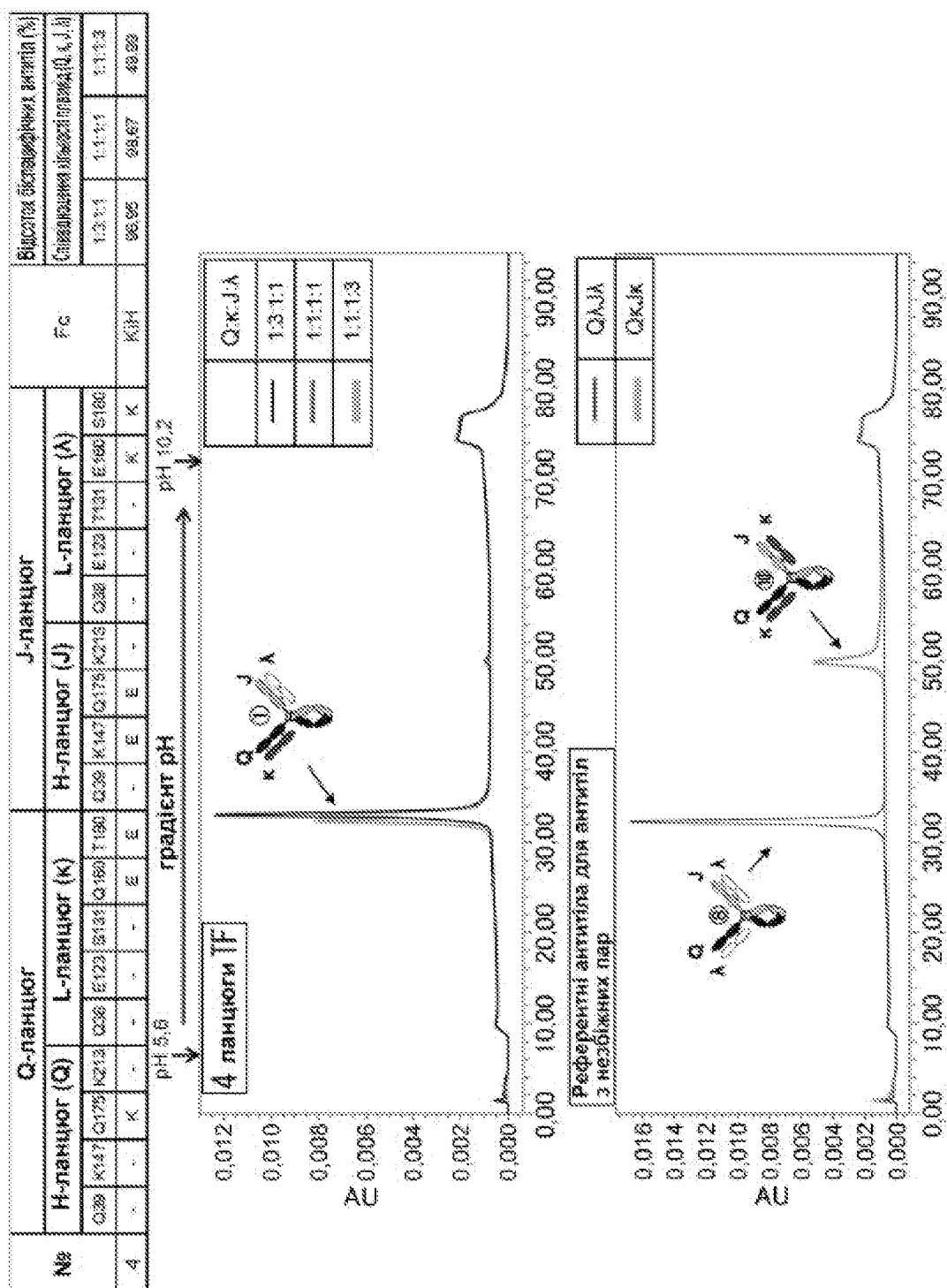
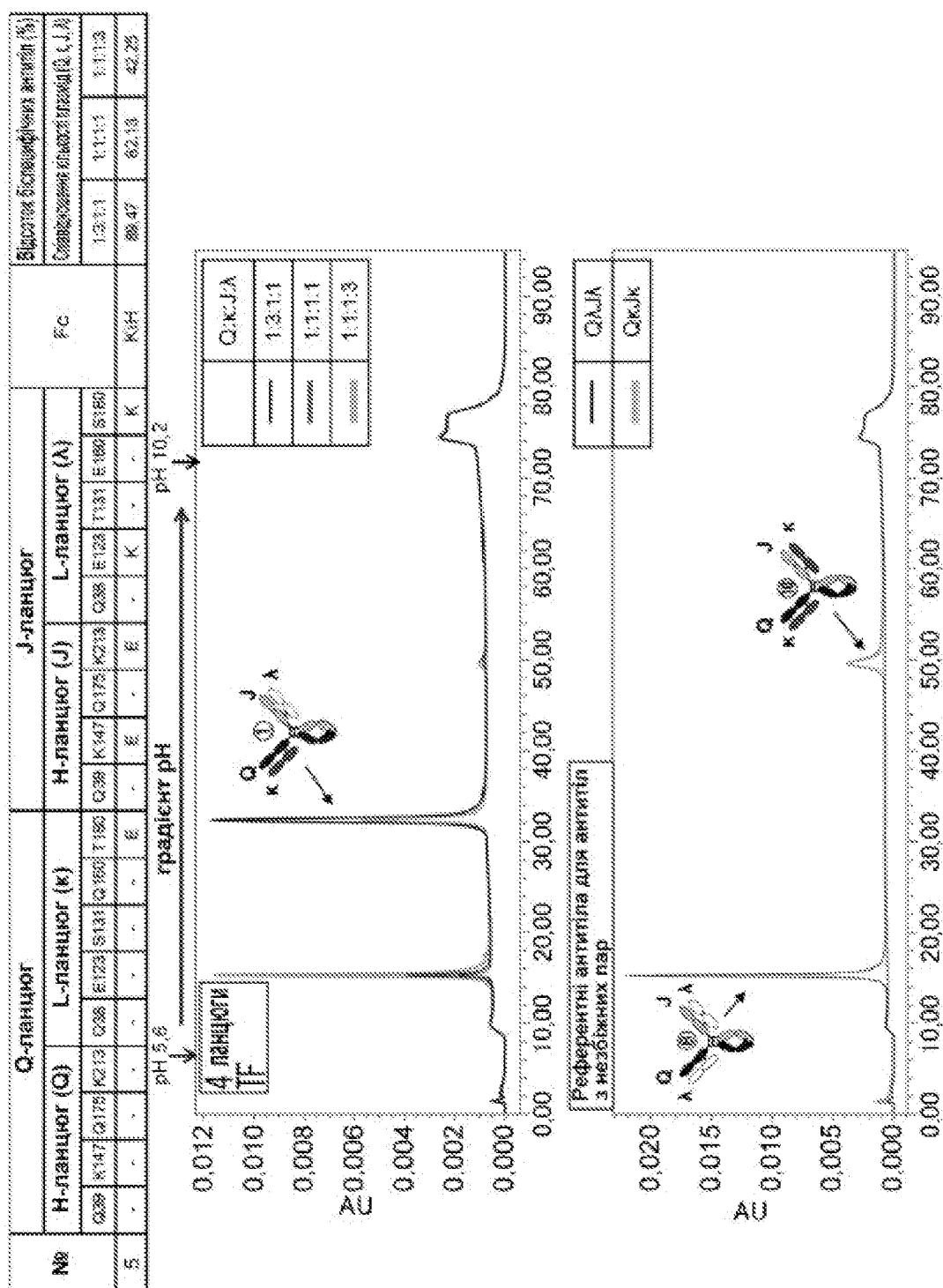
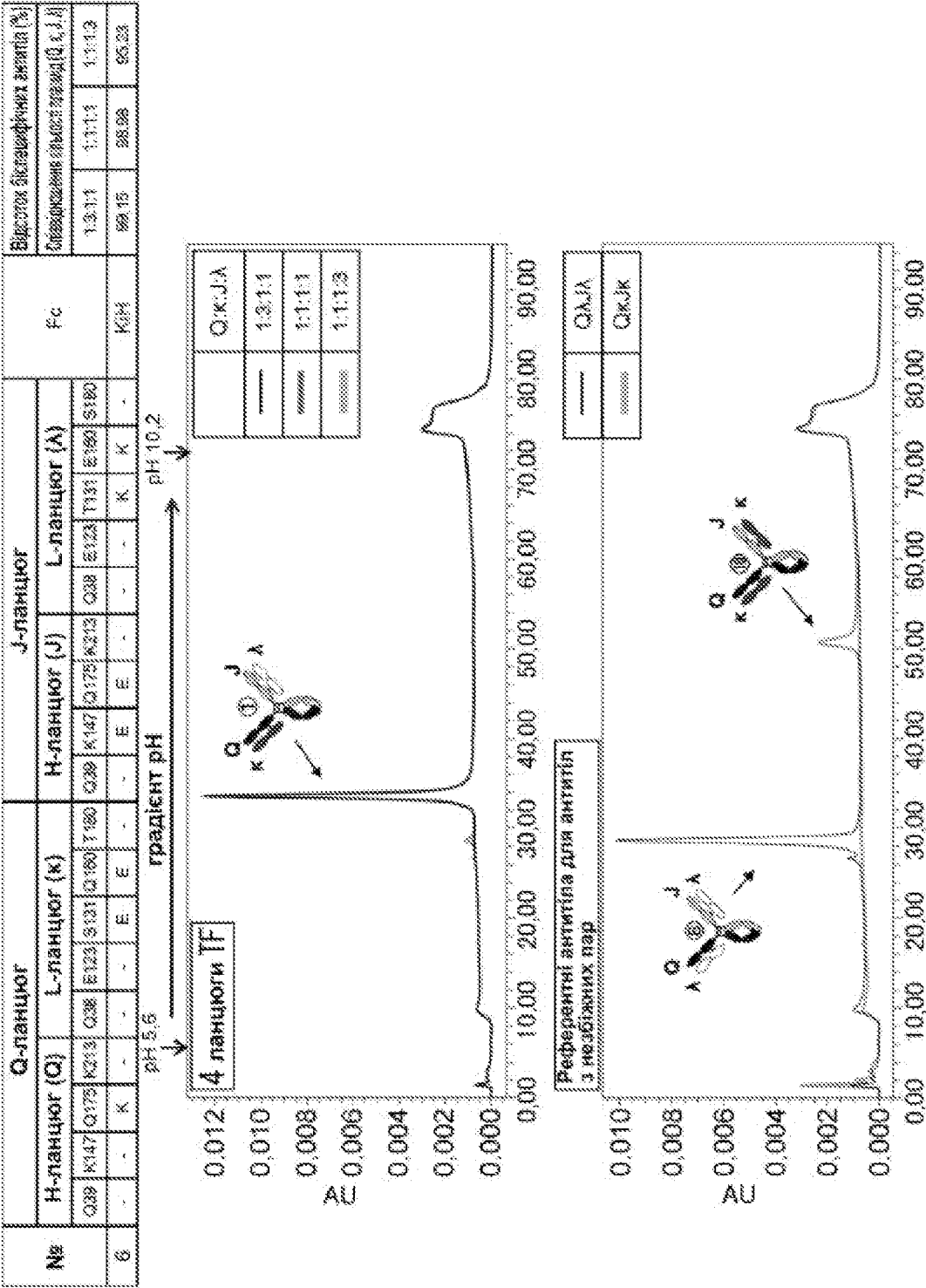


Fig. 9 - 4



Φir. 9 - 5



Фиг. 9 - 6

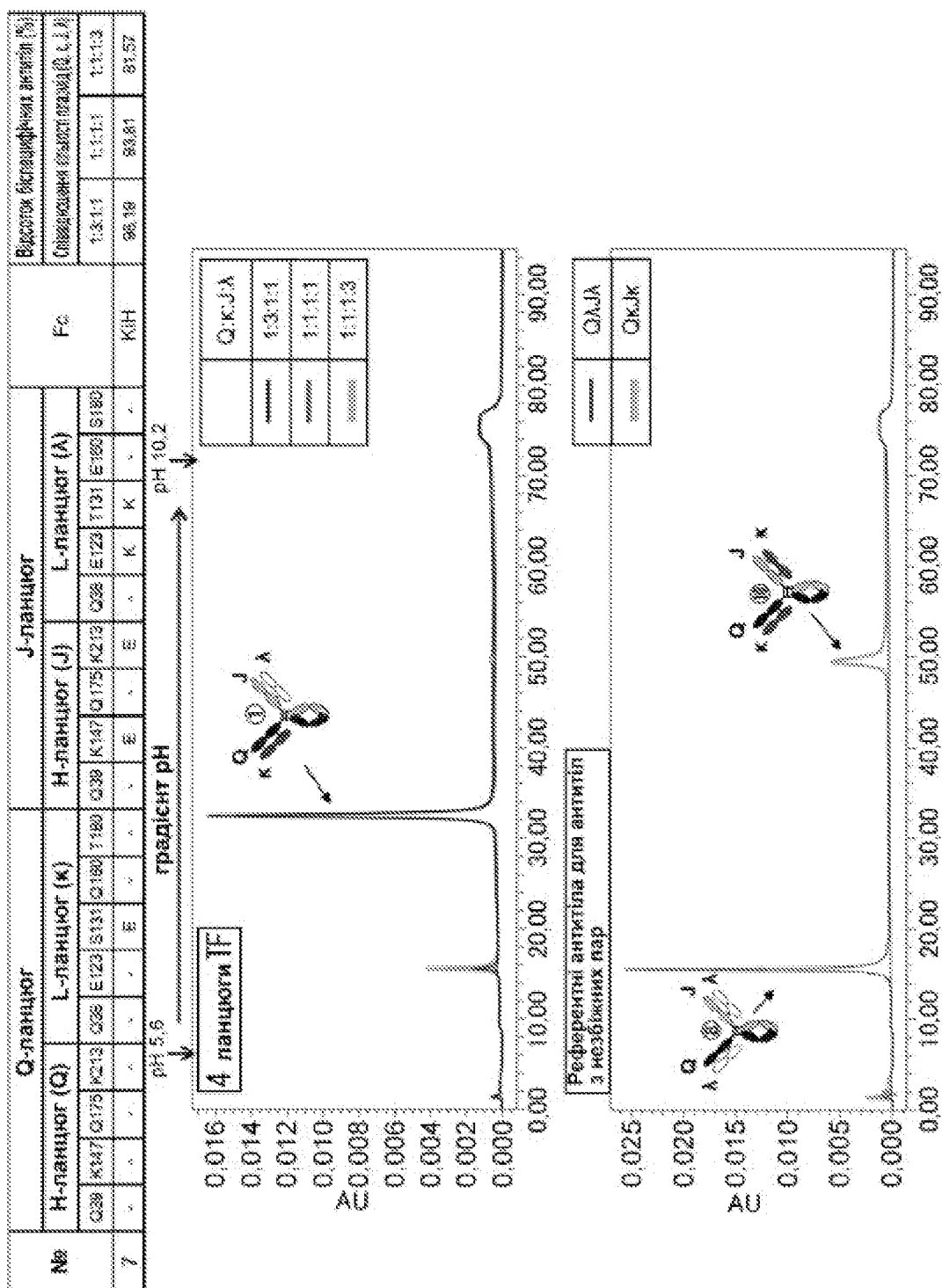


Fig. 9 - 7

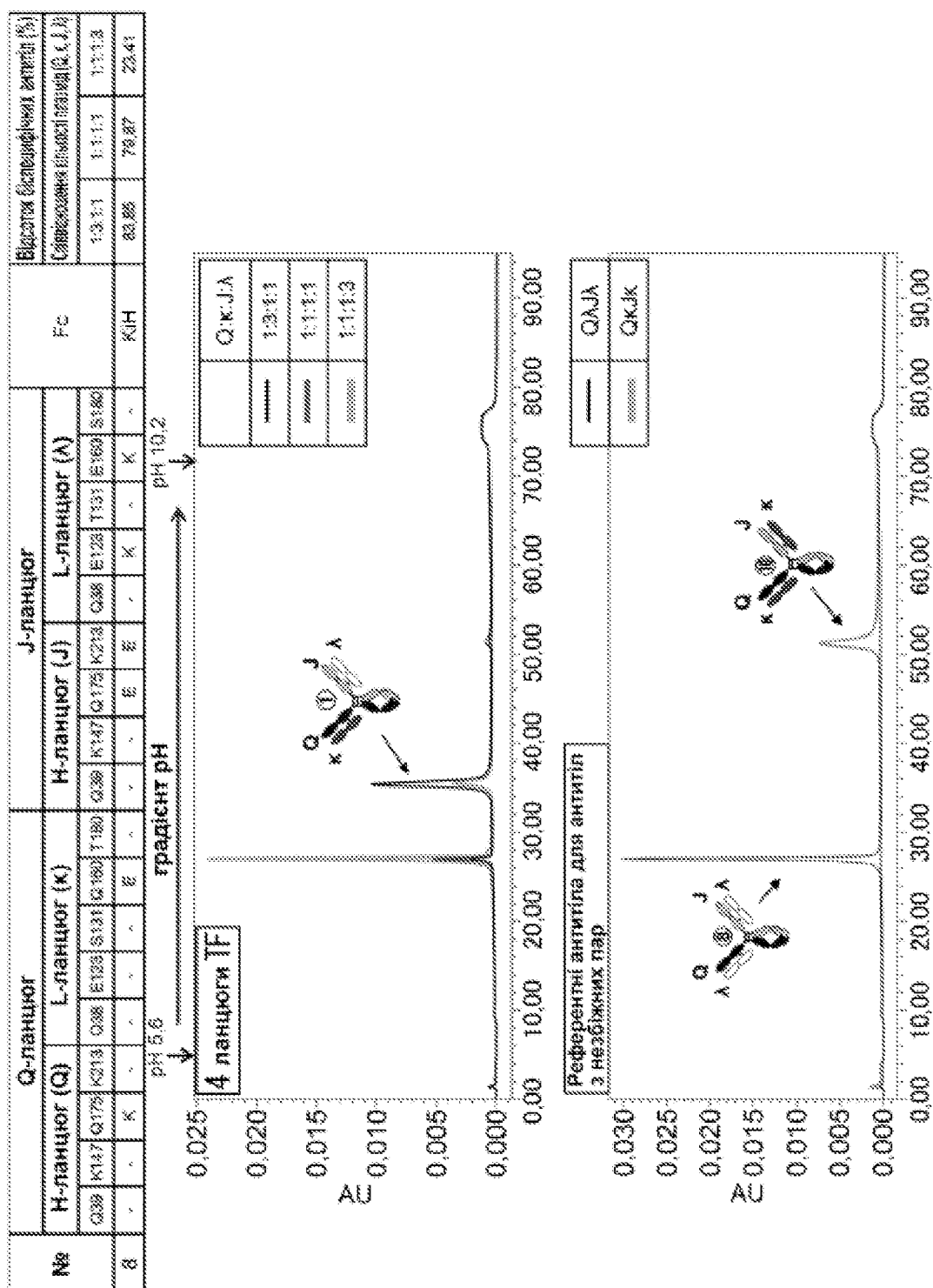


Fig. 9 - 8

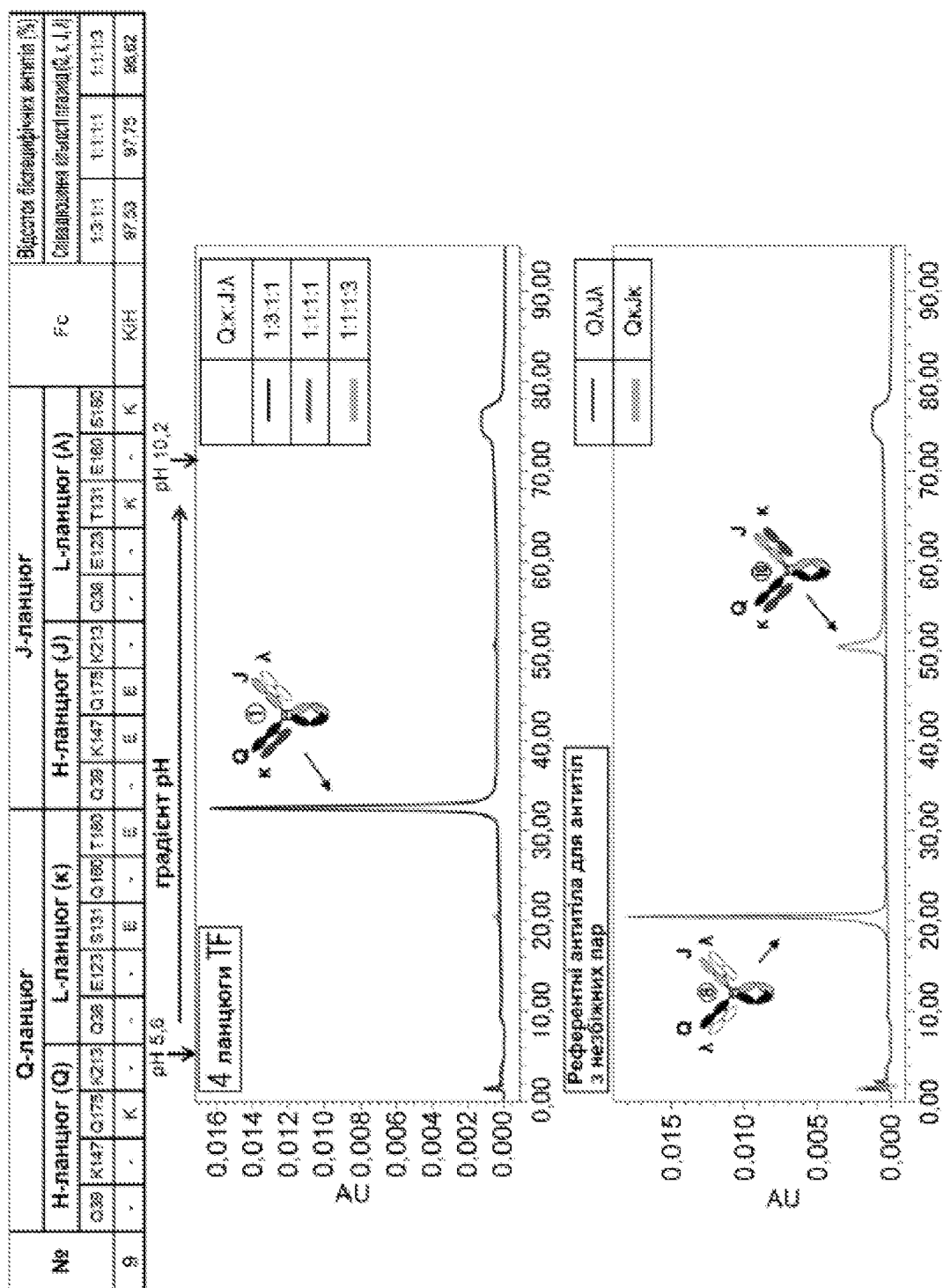


Fig. 9 - 9

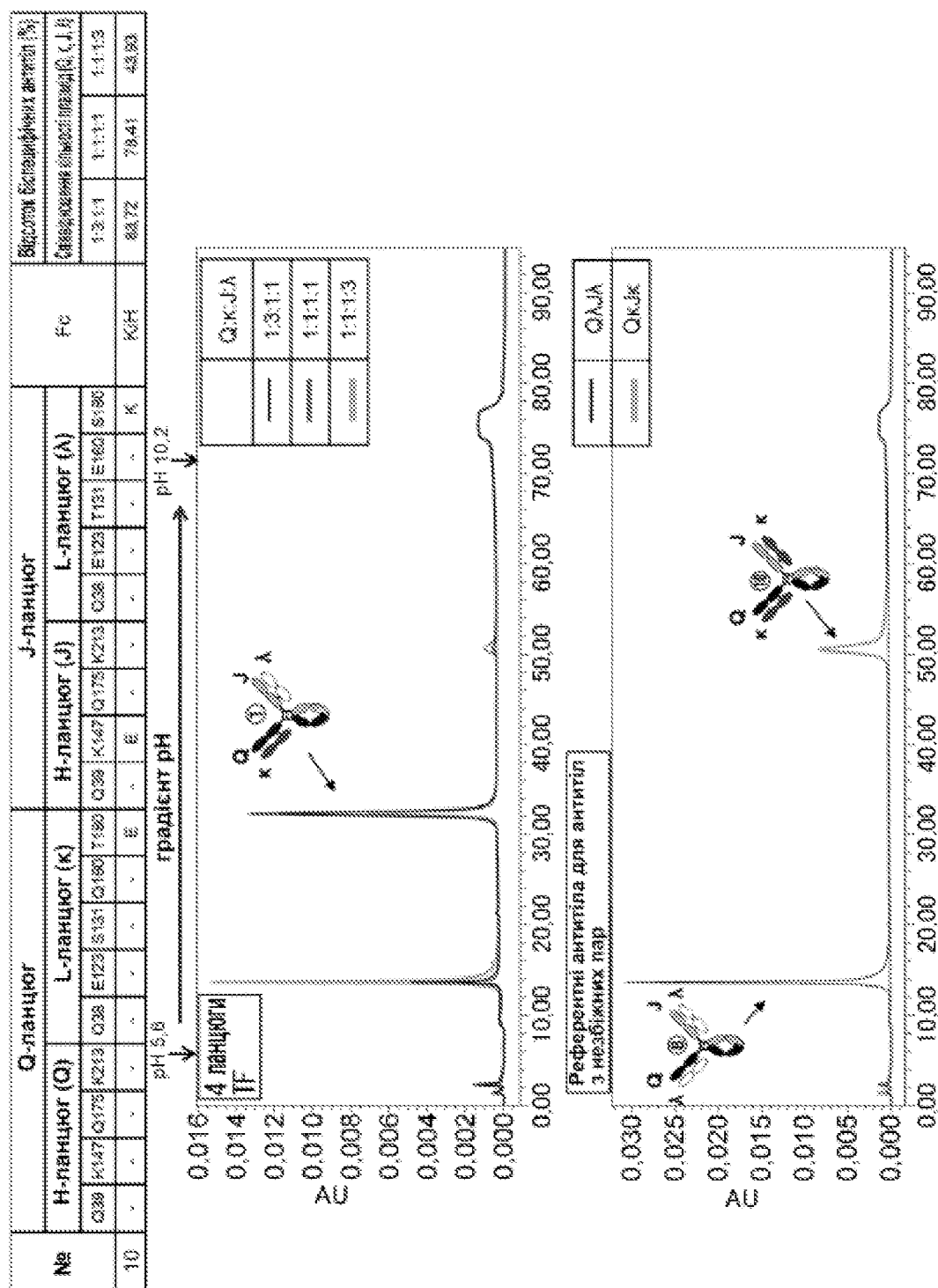


Fig. 9 - 10

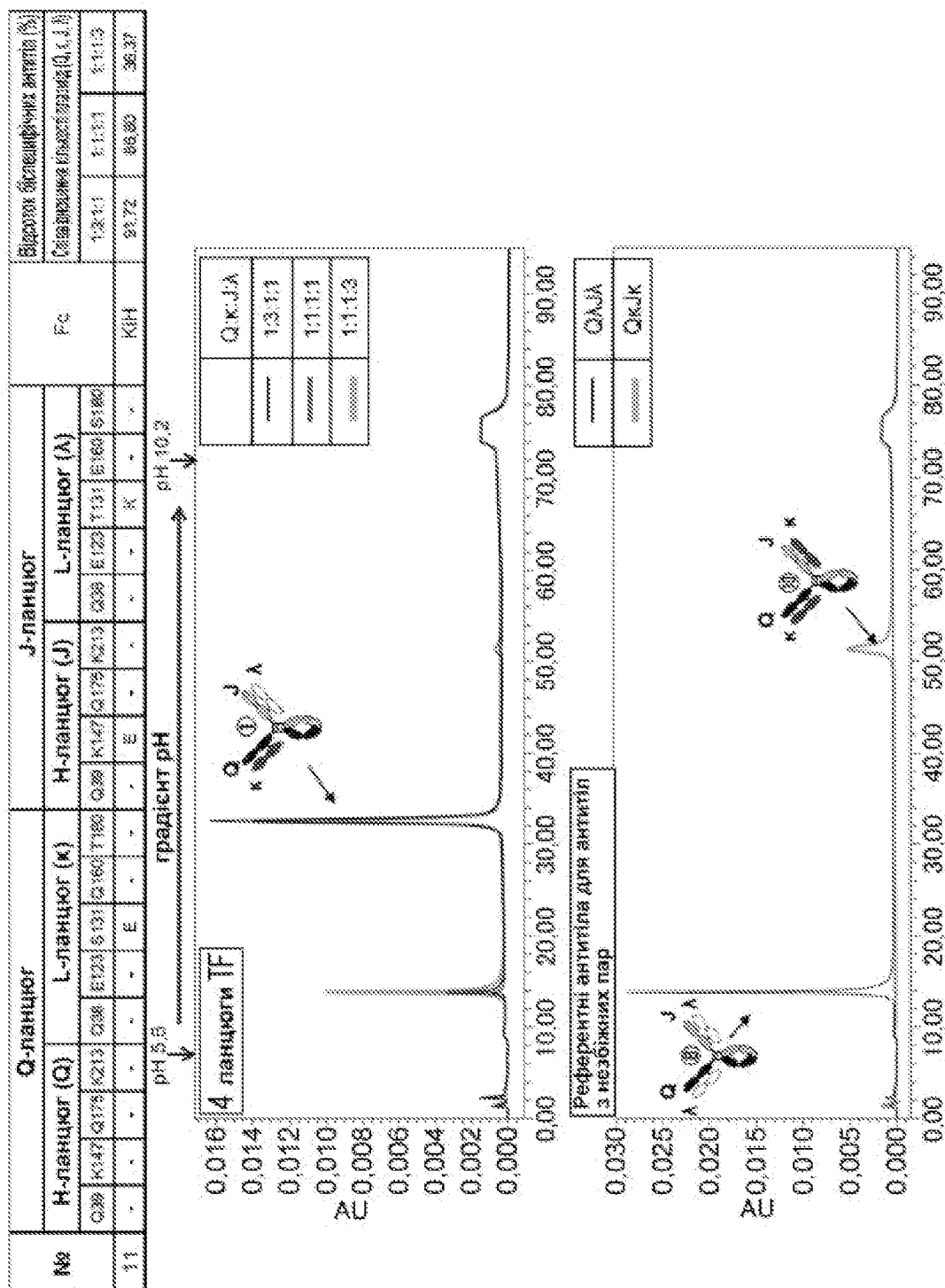
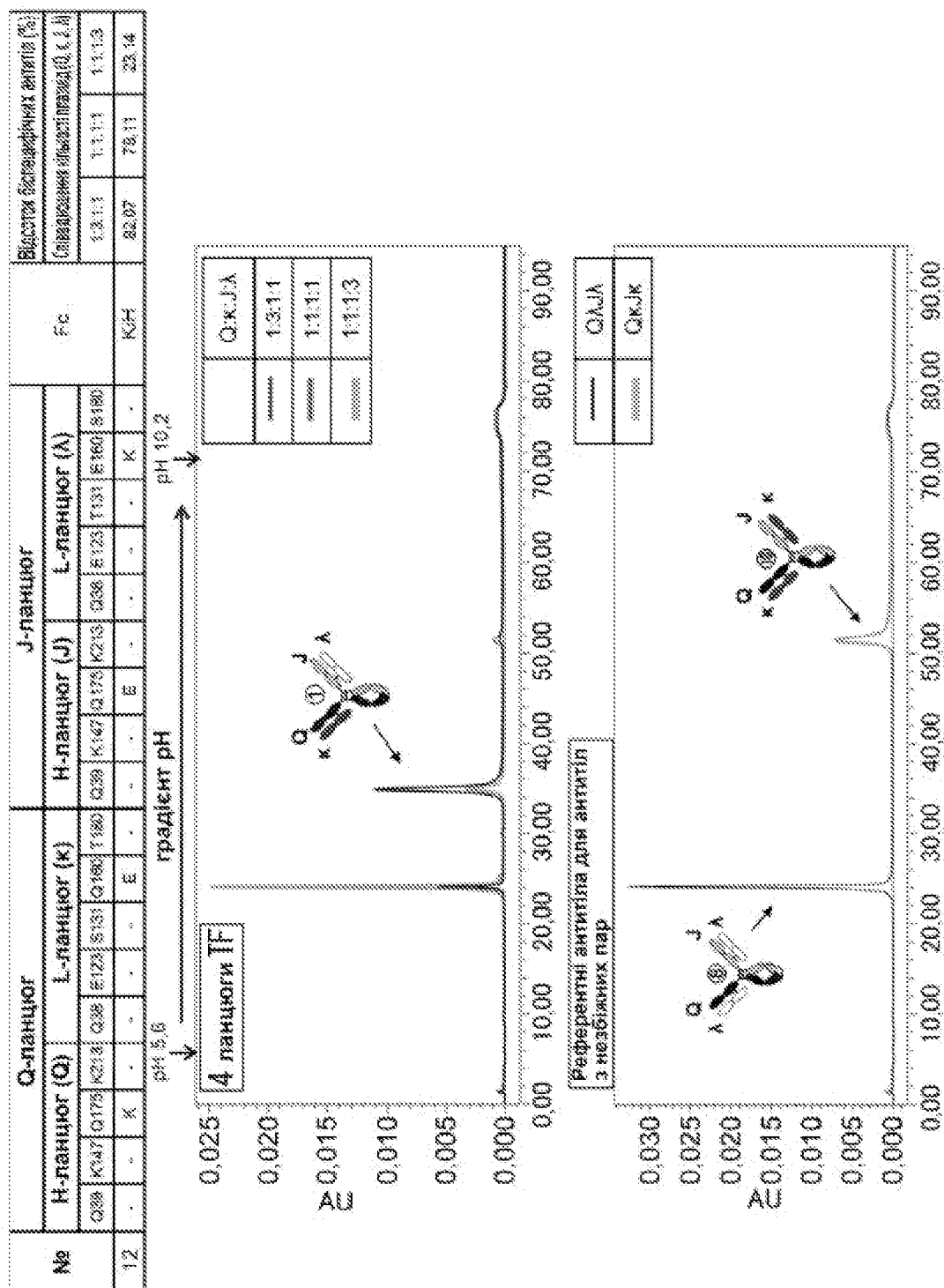


Fig. 9 - 11



Фиг. 9 - 12

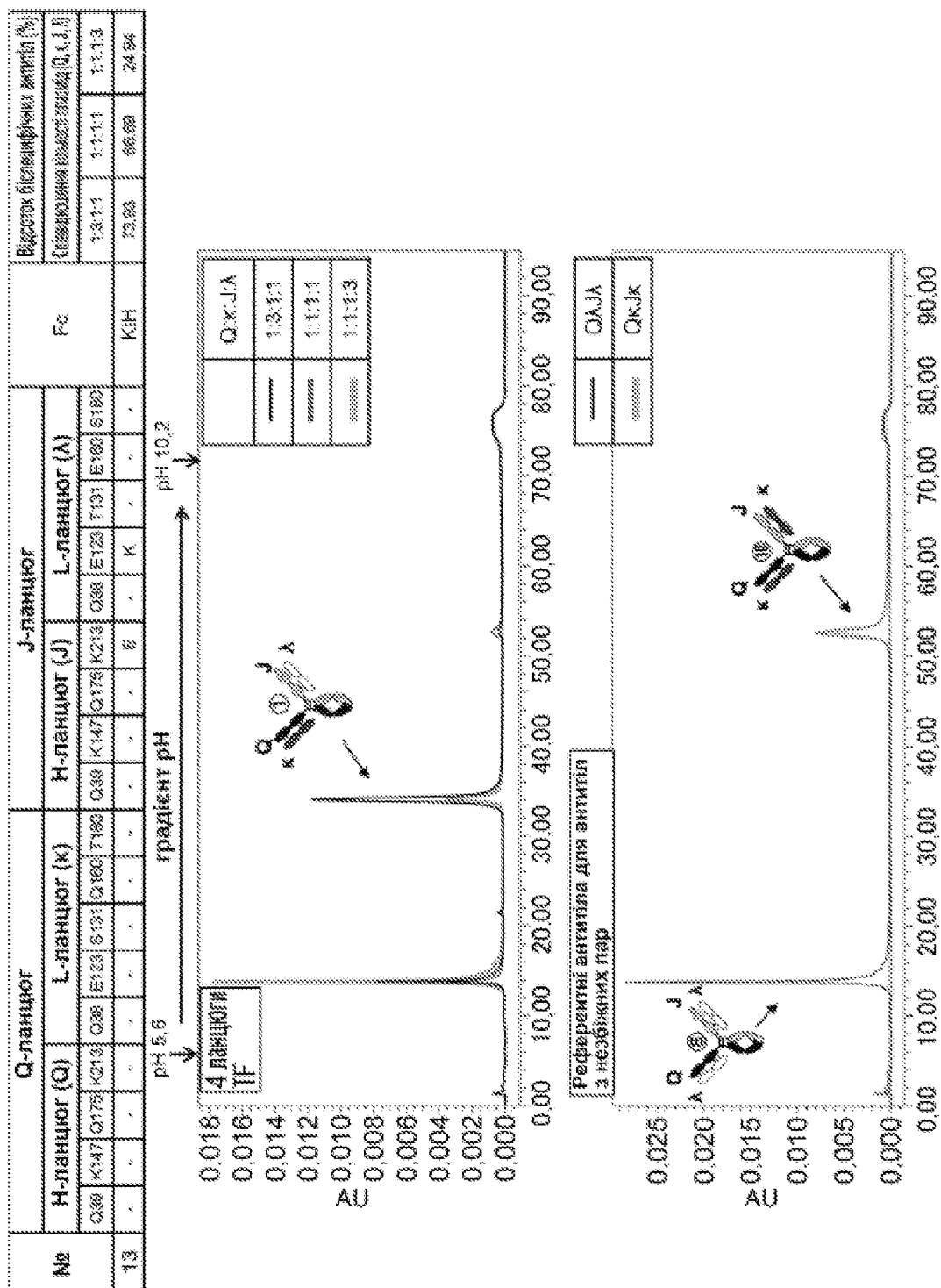
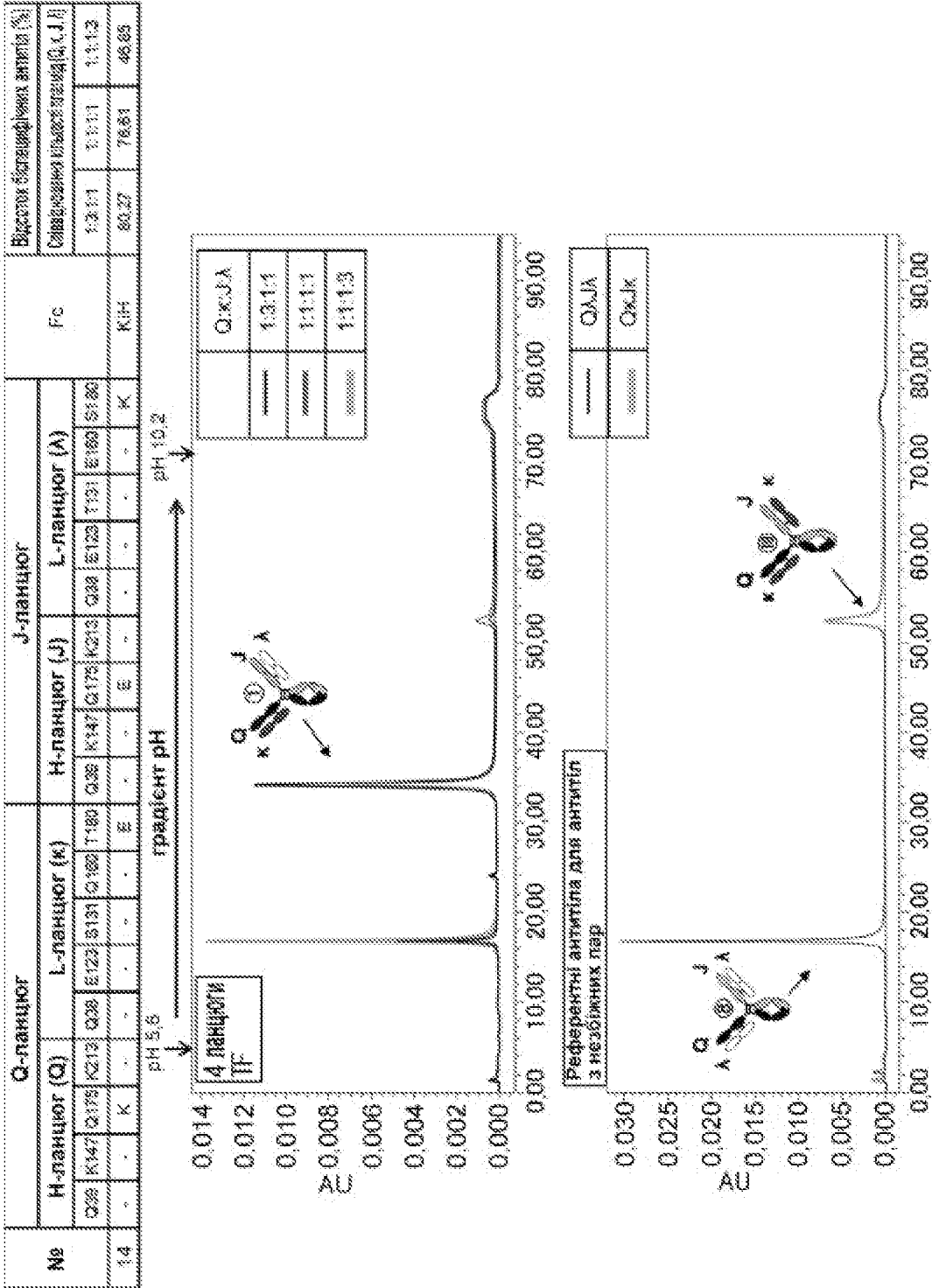


Fig. 9 - 13



Фиг. 9 - 14

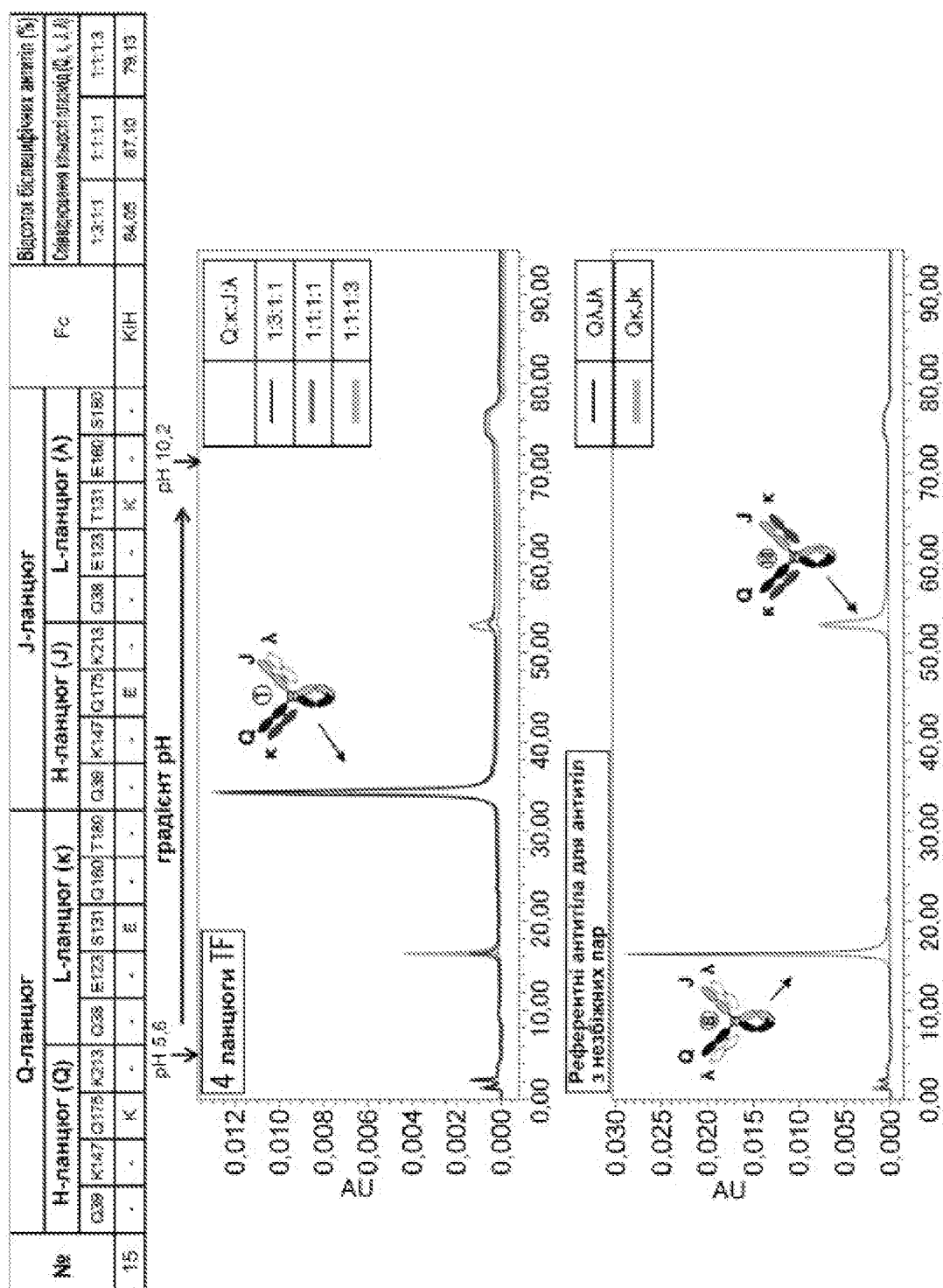


Fig. 9 - 15

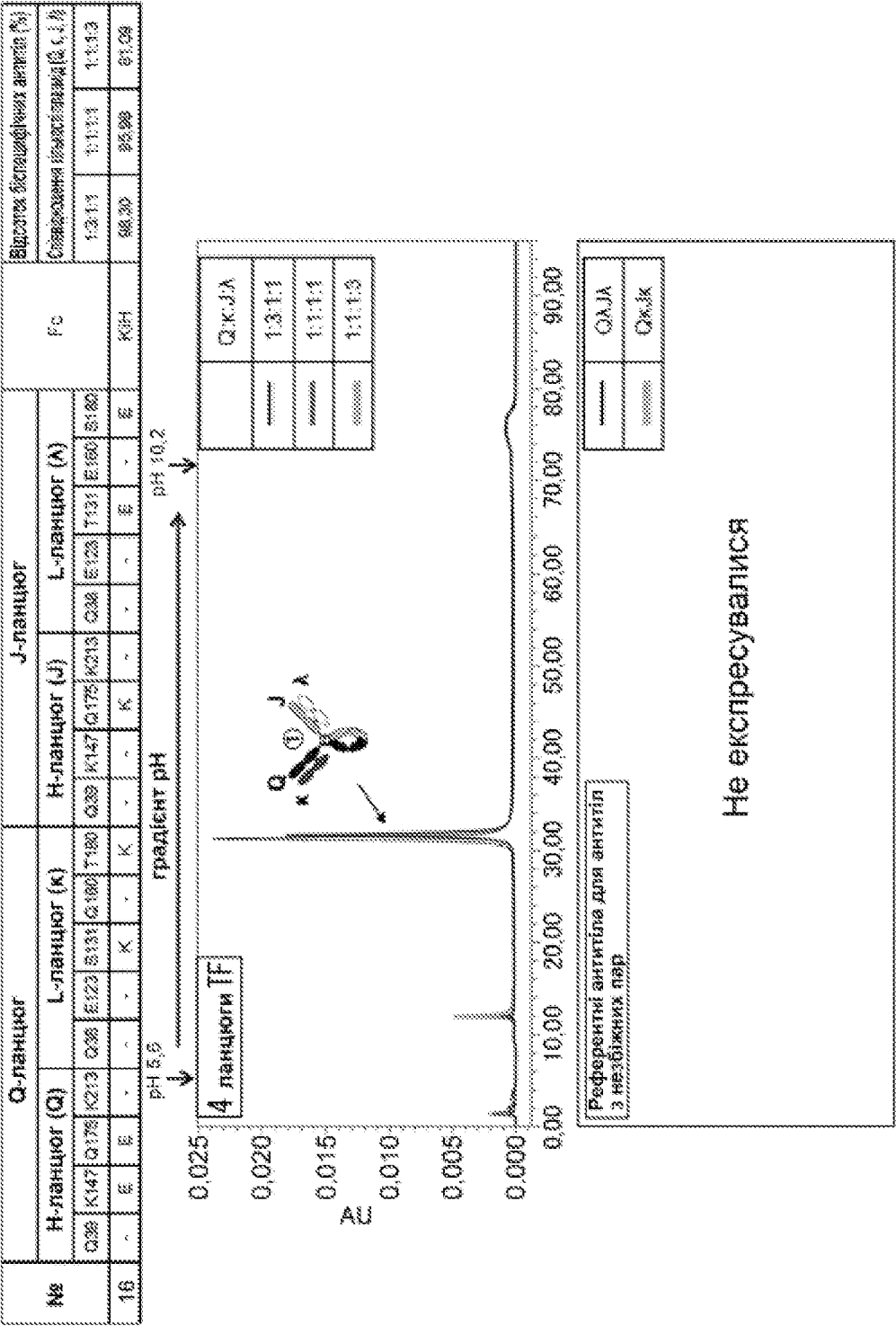


Fig. 9 - 16

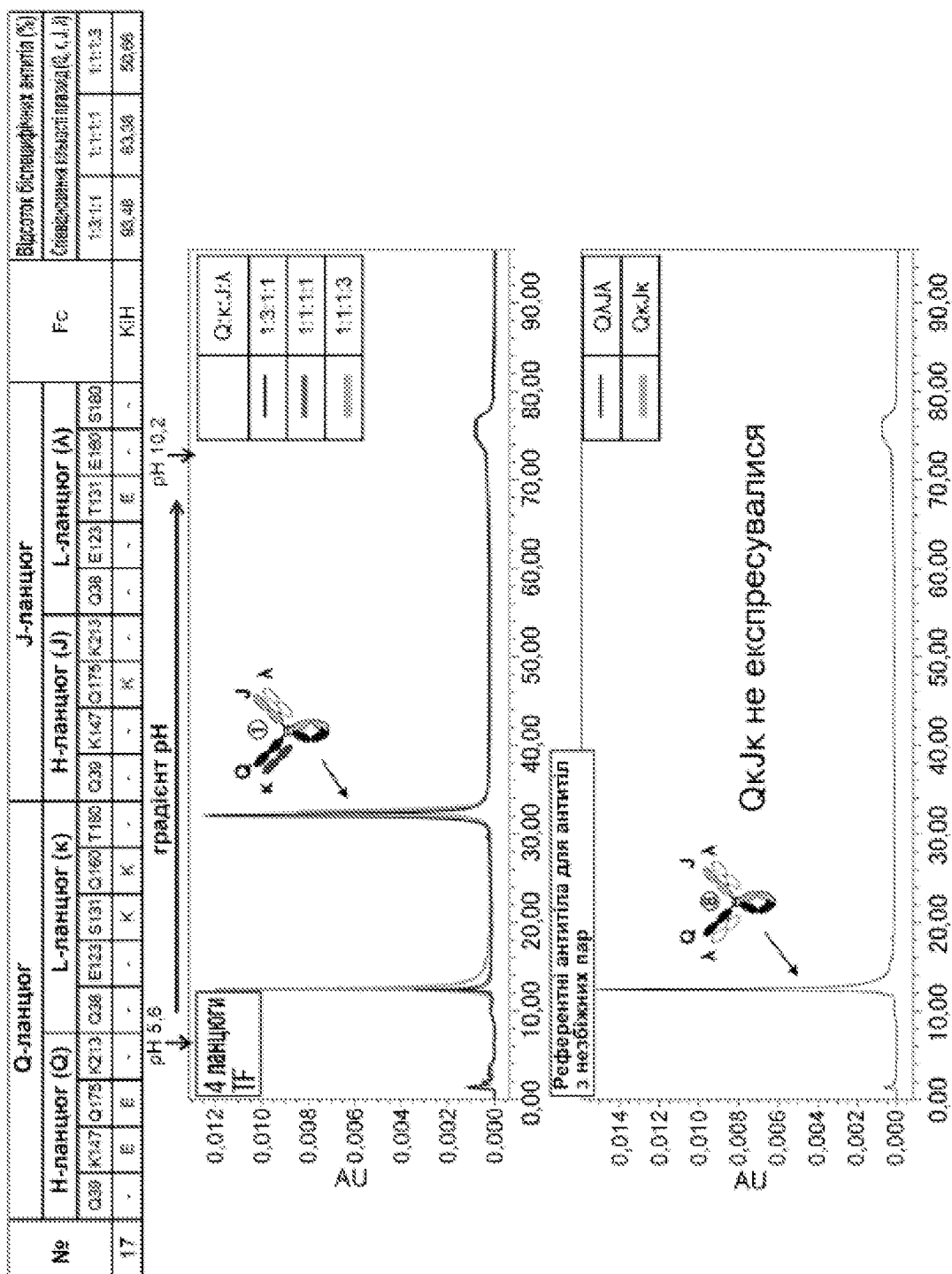


Fig. 9 - 17

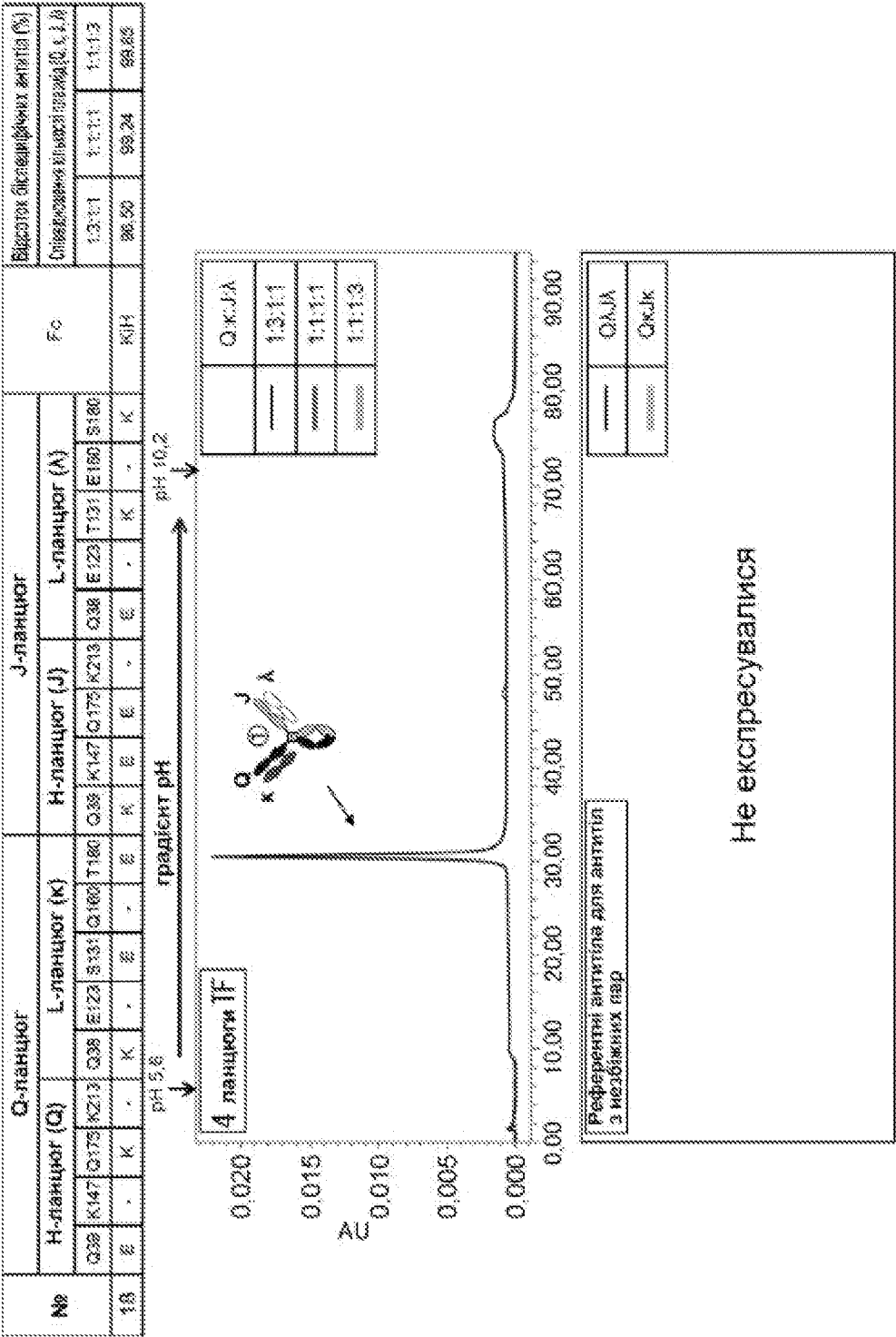
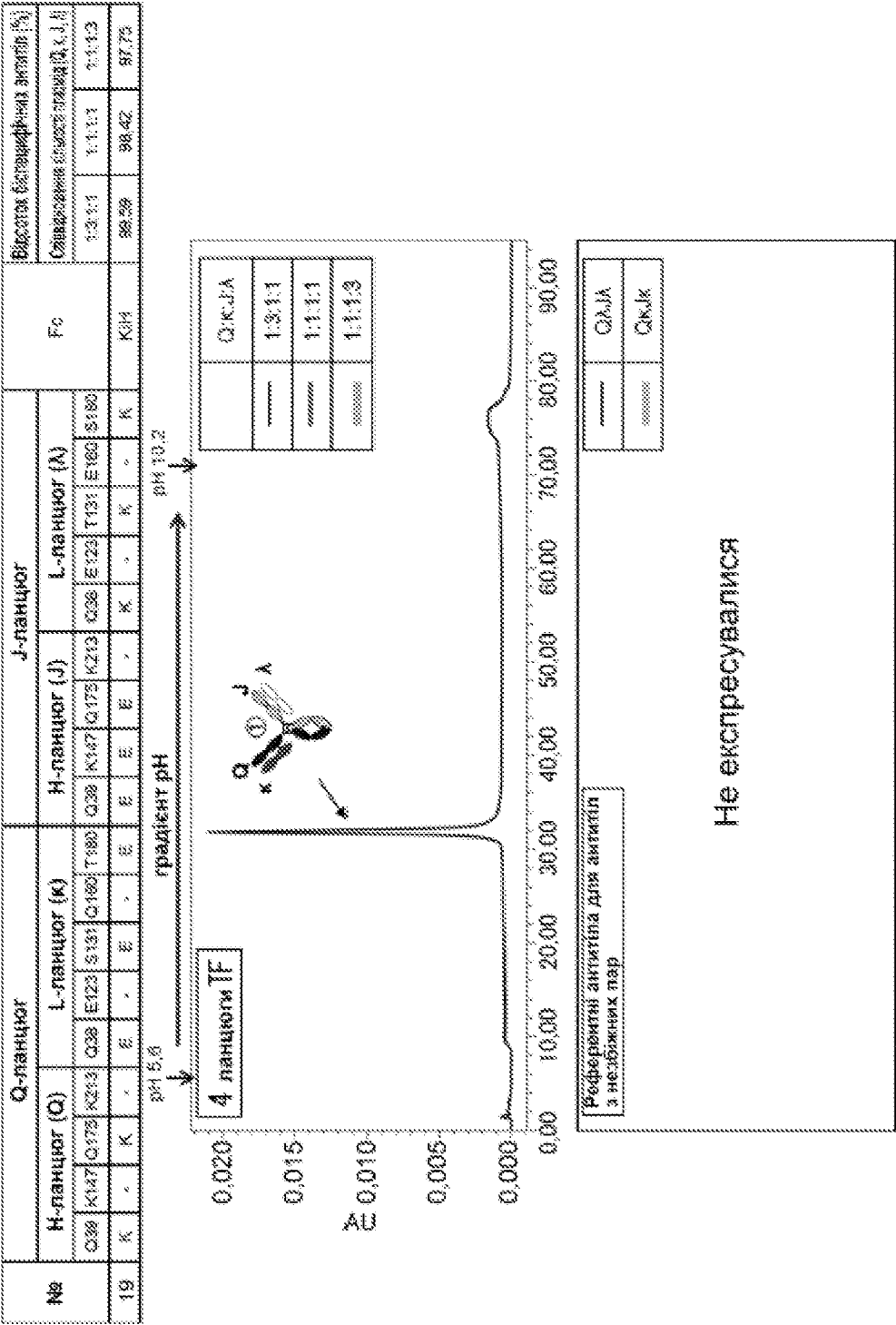
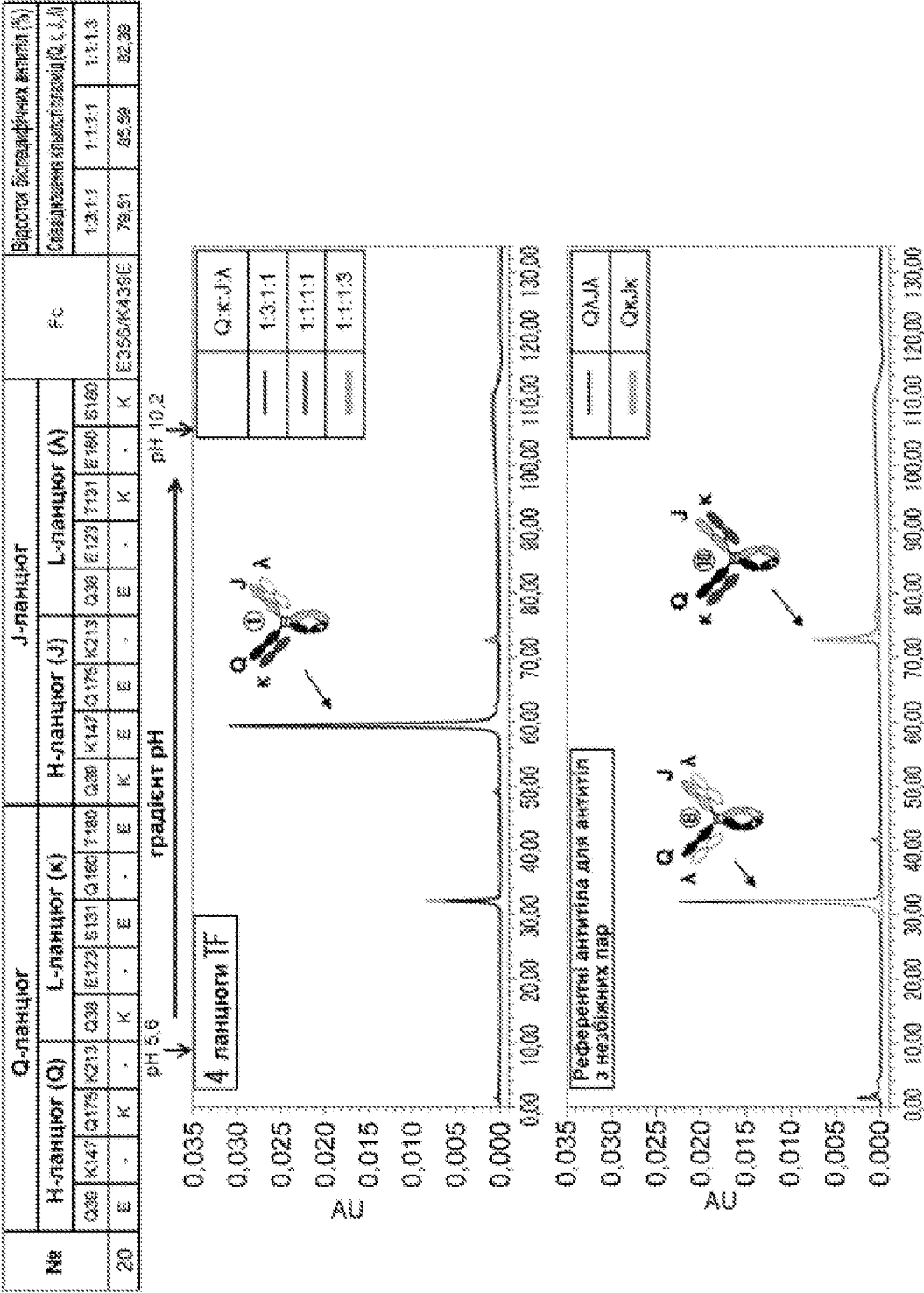


Fig. 9 - 18



Фиг. 9 - 19



Фиг. 9 - 20

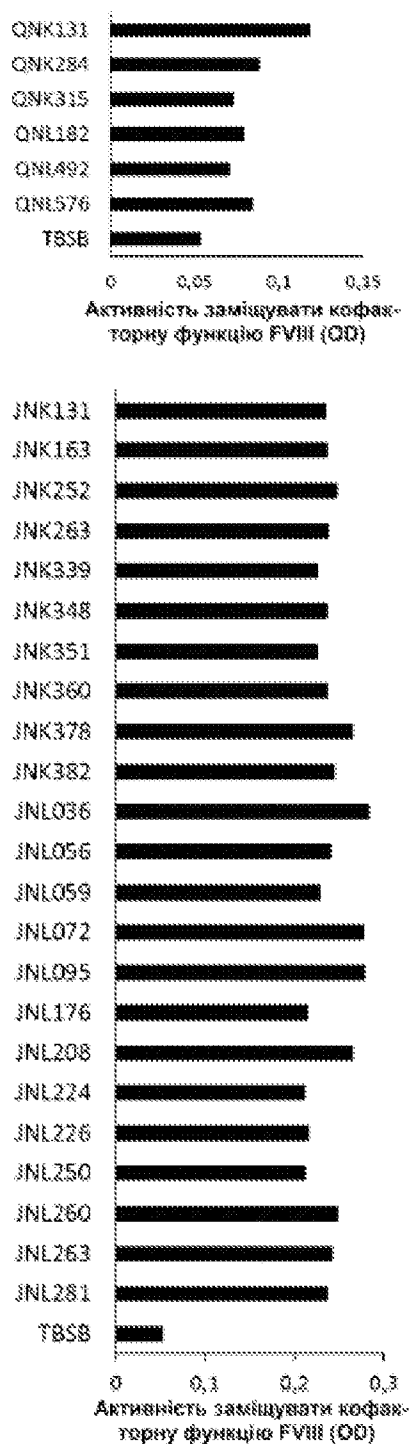


Fig. 10