

1. Химерний білок, що містить перший і другий поліпептидні ланцюги, де вказаний перший ланцюг містить біологічно активну молекулу і щонайменше тільки частину константної ділянки імуноглобуліну, де тільки перший ланцюг містить біологічно активну молекулу і де вказаний другий ланцюг містить щонайменше частину виключно константної ділянки імуноглобуліну.
2. Химерний білок за п. 1, де вказаний другий ланцюг, додатково, містить афінну мітку.
3. Химерний білок за п. 2, де афінною міткою є мітка FLAG.
4. Химерний білок за п. 1, де частиною імуноглобуліну є Fc-фрагмент.
5. Химерний білок за п. 4, де частина імуноглобуліну є FcRn-зв'язувальним партнером.
6. Химерний білок за п. 5, де FcRn-зв'язувальний партнер являє собою пептидний міметик Fc-фрагмента імуноглобуліну.
7. Химерний білок за п. 1 або 5, де імуноглобулін є IgG.
8. Химерний білок за п. 1 або 5, де біологічно активною молекулою є білок.
9. Химерний білок за п. 7, де IgG є IgG1 або IgG2.
10. Химерний білок за п. 1 або 5, де біологічно активною молекулою є інгібітор злиття вірусів.
11. Химерний білок за п. 10, де інгібітор злиття вірусів є інгібітором злиття B1L.
12. Химерний білок за п. 11, де інгібітором злиття B1L є T20 (SEQ ID NO:1), T21 (SEQ ID NO:2) або T1249 (SEQ ID NO:3).
13. Химерний білок за п. 1 або 5, де біологічно активною молекулою є фактор згортання крові.
14. Химерний білок за п. 13, де фактором згортання крові є фактор VII або VIIa.
15. Химерний білок за п. 13, де фактором згортання крові є фактор VIII або фактор VIIa.
16. Химерний білок за п. 13, де фактором згортання крові є фактор IX.
17. Химерний білок за п. 1 або 5, де біологічно активною молекулою є біополімерна молекула з молекулярною масою менше 50 кДа.
18. Химерний білок за п. 17, де біологічно активною молекулою є лейпролід.
19. Химерний білок за п. 17, де молекула є антагоністом VLA4.
20. Химерний білок за п. 1 або 5, де біологічно активною молекулою є інтерферон.
21. Химерний білок за п. 20, де біологічно активною молекулою є інтерферон α .
22. Химерний білок за п. 20, де біологічно активною молекулою є інтерферон β .
23. Химерний білок за п. 20, де інтерферон являє собою інтерферон α і має лінкер з 15-25 амінокислот.
24. Химерний білок за п. 21, де інтерферон α має лінкер з 15-20 амінокислот.
25. Химерний білок за п. 22, де лінкером є (GGGS)₃.
26. Химерний білок за п. 1 або 5, де біологічно активною молекулою є нуклеїнова кислота.
27. Химерний білок за п. 26, де нуклеїнова кислота є ДНК або РНК.
28. Химерний білок за п. 26, де нуклеїнова кислота є антисмисловою молекулою.
29. Химерний білок за п. 26, де нуклеїнова кислота є рибозимом.
30. Химерний білок за п. 1 або 5, де біологічно активною молекулою є фактор росту.
31. Химерний білок за п. 30, де фактором росту є еритропоетин.
32. Химерний білок, що містить перший і другий поліпептидні ланцюги, де вказаний перший ланцюг містить біологічно активну молекулу і щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну, і де вказаний другий ланцюг по суті містить щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну і афінну мітку, де тільки перший ланцюг містить біологічно активну молекулу.
33. Химерний білок за п. 32, де афінною міткою є мітка FLAG.

34. Химерний білок, що містить перший і другий поліпептидні ланцюги, де
- а) вказаний перший ланцюг містить біологічно активну молекулу, щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну і перший домен, що має щонайменше один специфічний зв'язувальний партнер;
 - б) тільки перший ланцюг містить біологічно активну молекулу; і
 - с) вказаний другий ланцюг по суті містить щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну і додатково містить другий домен, при цьому вказаний другий домен є специфічним зв'язувальним партнером вказаного першого домену.
35. Химерний білок за п. 34, де вказаний другий ланцюг додатково містить афінну мітку.
36. Химерний білок за п. 34, де афінною міткою є мітка FLAG.
37. Химерний білок за п. 34, де частина імуноглобуліну являє собою Fc-фрагмент.
38. Химерний білок за п. 34 або 37, де імуноглобулін є IgG.
39. Химерний білок за п. 37, де частина імуноглобуліну є FcRn-зв'язувальним партнером.
40. Химерний білок за п. 39, де FcRn-зв'язувальним партнером є пептидний міметик Fc-фрагмента імуноглобуліну.
41. Химерний білок за п. 34 або 39, де перший домен зв'язується з другим доменом нековалентно.
42. Химерний білок за п. 34 або 39, де перший домен являє собою половину подвійної спіралі лейцинового зіпера і вказаний другий домен є комплементарним зв'язувальним партнером вказаної подвійної спіралі лейцинового зіпера.
43. Химерний білок за п. 34 або 39, де біологічно активною молекулою є білок.
44. Химерний білок за п. 34 або 39, де біологічно активною молекулою є інтерферон.
45. Химерний білок за п. 44, де біологічно активною молекулою є інтерферон α .
46. Химерний білок за п. 44, де біологічно активною молекулою є інтерферон β .
47. Химерний білок за п. 44, де інтерферон являє собою інтерферон α і має лінкер з 15-25 амінокислот.
48. Химерний білок за п. 47, де інтерферон α має лінкер з 15-20 амінокислот.
49. Химерний білок за п. 43, де біологічно активною молекулою є лейпролід.
50. Химерний білок за п. 34 або 39, де біологічно активною молекулою є інгібітор злиття вірусів.
51. Химерний білок за п. 50, де інгібітор злиття вірусів є інгібітором злиття B1L.
52. Химерний білок за п. 51, де інгібітором злиття B1L є T20 (SEQ ID NO:1), T21 (SEQ ID NO:2) або T1249 (SEQ ID NO:3).
53. Химерний білок за п. 34 або 39, де біологічно активною молекулою є фактор згортання крові.
54. Химерний білок за п. 53, де фактором згортання крові є фактор VII або VIIa.
55. Химерний білок за п. 53, де фактором згортання крові є фактор VIII або VIIIa.
56. Химерний білок за п. 53, де фактором згортання крові є фактор IX.
57. Химерний білок за п. 34 або 39, де біологічно активною молекулою є біополімерна молекула з молекулярною масою менше 50 кДа.
58. Химерний білок за п. 57, де біологічно активною молекулою є антагоніст VLA4.
59. Химерний білок за п. 34 або 39, де біологічно активна молекула містить нуклеїнову кислоту.
60. Химерний білок за п. 59, де нуклеїнова кислота є ДНК або РНК.
61. Химерний білок за п. 59, де нуклеїнова кислота є антисмисловою нуклеїновою кислотою.
62. Химерний білок за п. 59, де нуклеїнова кислота є рибозимом.
63. Химерний білок за п. 34 або 39, де біологічно активною молекулою є фактор росту або гормон.

64. Химерний білок за п. 63, де фактором росту є еритропоетин.
65. Фармацевтична композиція, що містить химерний білок за будь-яким з пп. 1, 5, 34 або 39 і фармацевтично прийнятний ексципієнт.
66. Химерний білок, що містить перший і другий поліпептидні ланцюги, де
- а) вказаний перший ланцюг містить біологічно активну молекулу, щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну і перший домен, що має щонайменше один специфічний зв'язувальний партнер; і
 - б) вказаний другий ланцюг містить щонайменше тільки частину імуноглобуліну і другий домен, який є специфічним зв'язувальним партнером вказаного першого домену, і афінну мітку.
67. Химерний білок за п. 66, де афінною міткою є мітка FLAG.
68. Химерний білок, що містить перший і другий поліпептидні ланцюги, де
- а) вказаний перший ланцюг містить біологічно активну молекулу, щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну і перший домен, що має щонайменше один специфічний зв'язувальний партнер; і
 - б) тільки перший ланцюг містить біологічно активну молекулу; і
 - с) вказаний другий ланцюг по суті містить щонайменше частину імуноглобуліну, другий домен, де другий домен є специфічним зв'язувальним партнером вказаного першого домену, і афінну мітку.
69. Химерний білок за п. 68, де афінною міткою є мітка FLAG.
70. Спосіб одержання біологічно активного химерного білка за п. 1, в якому здійснюють:
- а) трансфекцію першої клітини першою конструкцією ДНК, що містить молекулу ДНК, яка кодує перший ланцюг;
 - б) трансфекцію другої клітини другою конструкцією ДНК, що містить молекулу ДНК, яка кодує другий ланцюг;
 - с) культивування клітин, трансфікованих на етапах а) і б) в таких умовах, за яких експресується поліпептид, що кодується вказаною першою конструкцією ДНК і вказаною другою конструкцією ДНК.
71. Спосіб за п. 70, де вказана частина константної ділянки імуноглобуліну є FcRn-зв'язувальним партнером.
72. Спосіб за п. 70, в якому додатково здійснюють ізолювання химерного білка методом хроматографії.
73. Спосіб за п. 70 або 71, в якому біологічно активною молекулою є поліпептид.
74. Спосіб за п. 70 або 71, де біологічно активною молекулою є інтерферон.
75. Спосіб за п. 74, де біологічно активною молекулою є інтерферон α .
76. Спосіб за п. 74, де біологічно активною молекулою є інтерферон β .
77. Спосіб за п. 74, де інтерферон являє собою інтерферон α і містить лінкер з 15-25 амінокислот.
78. Спосіб за п. 74, де інтерферон α має лінкер з 15-20 амінокислот.
79. Спосіб за п. 70 або 71, де біологічно активною молекулою є інгібітор злиття вірусів.
80. Спосіб за п. 79, де інгібітор злиття вірусів є інгібітором злиття B1L.
81. Спосіб за п. 80, де інгібітором злиття B1L є T20 (SEQ ID NO:1), T21 (SEQ ID NO:2) або T1249 (SEQ ID NO:3).
82. Спосіб за п. 70 або 71, де біологічно активна молекула містить фактор згортання крові.
83. Спосіб за п. 82, де фактором згортання крові є фактор VII або VIIa.
84. Спосіб за п. 83, де фактором згортання крові є фактор VIII або фактор VIIIa.
85. Спосіб за п. 82, де фактором згортання крові є фактор IX.
86. Спосіб за п. 70 або 71, де біологічно активною молекулою є біополімерна молекула з молекулярною масою менше 50 кДа.

87. Спосіб за п. 70 або 71, в якому біологічно активна молекула містить нуклеїнову кислоту.
88. Спосіб за п. 87, де нуклеїнова кислота є ДНК або РНК.
89. Спосіб за п. 87, де нуклеїнова кислота є антисмисловою молекулою.
90. Спосіб за п. 87, де нуклеїнова кислота є рибозимом.
91. Спосіб за п. 70 або 71, де біологічно активна молекула містить фактор росту або гормон.
92. Спосіб за п. 91, де фактором росту є еритропоетин.
93. Спосіб за п. 70 або 71, де димери виділяють за допомогою хроматографії.
94. Спосіб за п. 70 або 71, де клітина є еукаріотичною клітиною.
95. Спосіб за п. 94, де еукаріотичною клітиною є клітина СНО.
96. Спосіб за п. 70 або 71, де клітина є прокаріотичною клітиною.
97. Спосіб за п. 96, де прокаріотичною клітиною є клітина *E. coli*.
98. Спосіб лікування пацієнта із захворюванням або станом, що включає введення химерного білка за п. 5 пацієнту, який цього потребує.
99. Спосіб за п. 98, де вказаний химерний білок вводять внутрішньовенним, підшкірним, пероральним, букальним, під'язиковим, назальним, парентеральним, ректальним, вагінальним або легеневим шляхом.
100. Спосіб за п. 98, де вказаною біологічно активною молекулою є фактор VIII або фактор VIIIa.
101. Спосіб за п. 98, де вказаним захворюванням або станом є вірусна інфекція.
102. Спосіб за п. 98, де біологічно активною молекулою є інтерферон.
103. Спосіб за п. 102, де біологічно активною молекулою є інтерферон α .
104. Спосіб за п. 102, де біологічно активною молекулою є інтерферон β .
105. Спосіб за п. 102, де інтерферон являє собою інтерферон α і містить лінкер з 15-25 амінокислот.
106. Спосіб за п. 105, де інтерферон α містить лінкер з 15-20 амінокислот.
107. Спосіб за п. 98, де вказаним захворюванням або станом є ВІЛ-інфекція.
108. Спосіб за п. 98, де вказаною біологічно активною молекулою є інгібітор злиття вірусів.
109. Спосіб за п. 108, де інгібітор злиття вірусів є T20, T21 або T1249.
110. Спосіб за п. 98, де вказаним захворюванням або станом є гемостатичний розлад.
111. Спосіб за п. 98, де вказаним захворюванням або станом є гемофілія А.
112. Спосіб за п. 98, де вказаним захворюванням або станом є гемофілія В.
113. Спосіб за п. 98, де вказаною біологічно активною молекулою є фактор VII або фактор VIIa.
114. Спосіб за п. 98, де вказаною біологічно активною молекулою є фактор IX.
115. Спосіб за п. 98, де вказаним захворюванням або станом є анемія.
116. Спосіб за п. 98, де вказаною біологічно активною молекулою є еритропоетин.
117. Химерний білок формули
- $$X-L_a-F:F \text{ або } F:F-L_a-X,$$
- де X означає біологічно активну молекулу, L означає лінкер, F означає щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну, і a дорівнює цілому числу або нулю.
118. Химерний білок за п. 117, де F означає FcRn-зв'язувальний партнер.
119. Химерний білок за п. 117, де FcRn є пептидним міметиком Fc-фрагмента імуноглобуліну.
120. Химерний білок за п. 117 або 119, де кожний F хімічно зв'язаний з іншим F.
121. Спосіб за п. 120, де хімічне зв'язування є нековалентною взаємодією.
122. Спосіб за п. 120, де хімічний зв'язок є ковалентним зв'язком.
123. Спосіб за п. 120, де хімічний зв'язок є дисульфідним зв'язком.

124. Химерний білок за п. 117 або 118, де F зв'язаний з F зв'язком, який не є дисульфідним.
125. Химерний білок за п. 117, де F означає константну ділянку імуноглобуліну IgG.
126. Химерний білок за п. 117, де F означає IgG1.
127. Химерний білок за п. 117, де F означає Fc-фрагмент.
128. Химерний білок за п. 117, де X означає білок.
129. Химерний білок за п. 117, де X означає лейпролід.
130. Химерний білок за п. 117, де X являє собою біополімерну молекулу з молекулярною масою менше 50 кДа.
131. Химерний білок за п. 130, де мала молекула є антагоністом VLA4.
132. Химерний білок за п. 117, де X означає інгібітор злиття вірусів.
133. Химерний білок за п. 132, де інгібітор злиття вірусів є інгібітором злиття B1L.
134. Химерний білок за п. 133, де інгібітором злиття B1L є T20 (SEQ ID NO:1), T21 (SEQ ID NO:2) або T1249 (SEQ ID NO:3).
135. Химерний білок за п. 117 або 118, де X означає фактор згортання крові.
136. Химерний білок за п. 135, де фактором згортання крові є фактор VII або VIIa.
137. Химерний білок за п. 135, де фактором згортання крові є фактор VIII або фактор VIIIa.
138. Химерний білок за п. 135, де фактором згортання крові є фактор IX.
139. Химерний білок за п. 117 або 118, де X означає нуклеїнову кислоту.
140. Химерний білок за п. 139, де нуклеїнова кислота є молекулою ДНК або РНК.
141. Химерний білок за п. 117 або 118, де X означає фактор росту.
142. Химерний білок за п. 141, де фактором росту є еритропоєтин.
143. Спосіб лікування захворювання або стану пацієнта, що включає введення химерного білка за будь-яким з пп. 1, 5, 34, 39, 117 або 118 вказаному пацієнту.
144. Спосіб за п. 143, де вказаним захворюванням або станом є вірусна інфекція.
145. Спосіб за п. 143, де біологічно активною молекулою є інтерферон.
146. Спосіб за п. 145, де біологічно активною молекулою є інтерферон α .
147. Спосіб за п. 145, де біологічно активною молекулою є інтерферон β .
148. Спосіб за п. 145, де інтерферон являє собою інтерферон α і містить лінкер з 15-25 амінокислот.
149. Спосіб за п. 148, де інтерферон α містить лінкер з 15-20 амінокислот.
150. Спосіб за п. 144, де вірусною інфекцією є ВІЛ-інфекція.
151. Спосіб за п. 143, де вказаним захворюванням або станом є розлад кровотоку.
152. Спосіб за п. 151, де вказаним розладом кровотоку є гемофілія А.
153. Спосіб за п. 151, де вказаним розладом кровотоку є гемофілія В.
154. Спосіб за п. 143, де вказаним захворюванням або станом є анемія.
155. Спосіб за п. 143, де химерний білок вводять внутрішньовенним, внутрішньом'язовим, підшкірним, пероральним, букальним, під'язиковим, назальним, ректальним, вагінальним шляхом.
156. Спосіб за п. 155, де химерний білок вводять легеневим шляхом.
157. Спосіб за п. 155, де химерний білок вводять перорально.
158. Спосіб за п. 143, де імуноглобулін є IgG.
159. Спосіб за п. 143, де частина імуноглобуліну є Fc-фрагментом.
160. Химерний білок, що містить перший і другий поліпептидні ланцюги, зв'язані разом, в якому вказаний перший ланцюг містить біологічно активну молекулу і щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну, і вказаний другий ланцюг містить щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну, нековалентно зв'язану з будь-якою іншою молекулою, за винятком частини імуноглобуліну, що є у вказаному першому поліпептидному ланцюгу, де тільки перший поліпептидний ланцюг містить біологічно активну молекулу.

161. Химерний білок за п. 160, де частина константної ділянки імуноглобуліну є FcRn-зв'язувальним партнером.

162. Химерний білок, що містить перший і другий поліпептидні ланцюги, зв'язані разом, де вказаний перший ланцюг містить біологічно активну молекулу і щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну, і вказаний другий ланцюг містить щонайменше частину виключно константної ділянки імуноглобуліну, де тільки перший поліпептидний ланцюг містить біологічно активну молекулу.

163. Химерний білок за п. 162, де частина константної ділянки імуноглобуліну є FcRn-зв'язувальним партнером.

164. Спосіб одержання химерного білка, що містить Fc-фрагмент імуноглобуліну, зв'язаний з біологічно активною молекулою, при цьому у вказаному способі здійснюють

а) трансфекцію клітини конструкцією ДНК, яка містить послідовність ДНК, що кодує Fc-фрагмент імуноглобуліну, і другу послідовність ДНК, що кодує інтеїн;

б) культивування вказаної клітини, трансфікованої з етапу а), в таких умовах, за яких експресується Fc-фрагмент та інтеїн;

с) виділення вказаного Fc-фрагмента та інтеїну з вказаної клітини методом хроматографії;

д) хімічний синтез біологічно активної молекули, що має N-кінцевий Cys;

е) взаємодію виділеного інтеїн-Fc за с) з MESNA, з утворенням C-кінцевого тіоефіру;

ф) взаємодію біологічно активної молекули за д) з Fc за е) з одержанням химерного білка, що містить Fc, зв'язаного з біологічно активною молекулою.

165. Спосіб одержання химерного білка, що містить Fc-фрагмент імуноглобуліну, зв'язаний з біологічно активною молекулою, при цьому у вказаному способі здійснюють:

а) трансфекцію клітини конструкцією ДНК, яка містить послідовність ДНК, що кодує Fc-фрагмент імуноглобуліну, і другу послідовність ДНК, що кодує сигнальний пептид, де вказаний сигнальний пептид розташований поруч з цистеїном Fc-фрагмента;

б) культивування вказаної клітини, трансфікованої на етапі а) в таких умовах, за яких експресується Fc-фрагмент і сигнальний пептид і Fc-фрагмент секретується з клітини без сигнального пептиду і з N-кінцевим цистеїном;

с) виділення димерів поліпептидів вказаного Fc-фрагмента з N-кінцевим цистеїном, кодованим вказаною першою та другою конструкціями ДНК з а) з вказаної клітини хроматографією;

д) хімічний синтез біологічно активної молекули, що має тіоефір;

е) взаємодію біологічно активної молекули за д) Fc за с) в таких умовах, за яких біологічно активна молекула може зв'язуватися з одним ланцюгом димеру за с) з одержанням химерного білка, що містить Fc, зв'язаного з біологічно активною молекулою.

166. Спосіб за п. 165, де тіоефір є C-кінцевим тіоефіром.

167. Спосіб одержання химерного білка, що містить Fc-фрагмент імуноглобуліну, зв'язаний з біологічно активною молекулою, при цьому у вказаному способі здійснюють:

а) трансфекцію клітини конструкцією ДНК, яка містить послідовність ДНК, що кодує Fc-фрагмент імуноглобуліну, і другу послідовність ДНК, що кодує сигнальний пептид, де вказаний сигнальний пептид розташований поруч з цистеїном Fc-фрагмента;

б) культивування вказаної клітини, трансфікованої з етапу а) в таких умовах, за яких експресується Fc-фрагмент і сигнальний пептид, зв'язані разом, і вказаний сигнальний пептид відщеплюється від Fc-фрагмента в клітині в першому положенні, розташованому поруч з цистеїном, або у другому положенні, розташованому поруч з валіном;

с) виділення димерів поліпептиду вказаних Fc-фрагментів з двома N-кінцевими цистеїнами або двома N-кінцевими валінами або N-кінцевим цистеїном і N-кінцевим валіном, що кодуються вказаними першою і другою конструкціями ДНК за а), з вказаної

клітини хроматографією;

d) хімічний синтез біологічно активної молекули, що має тіоефір;

e) взаємодію біологічно активної молекули за d) з димерами за c) з одержанням химерного білка, що містить перший ланцюг, що включає в себе Fc, зв'язаний з біологічно активною молекулою, і другий ланцюг, що включає в себе Fc, не зв'язаний ні з якою біологічно активною молекулою або варіабельною ділянкою імуноглобуліну.

168. Спосіб за п. 167, де тіоефір є С-кінцевим тіоефіром.

169. Спосіб виділення химерного білка за п. 1 з суміші, де суміш містить

a) химерний білок за п. 1;

b) димер, що містить перший і другий поліпептидні ланцюги, де перший і другий ланцюги, обидва, містять біологічно активну молекулу і щонайменше частину константної ділянки імуноглобуліну; і

c) частину константної ділянки імуноглобуліну;

де вказаний спосіб передбачає:

1) приведення в контакт суміші з лігандом-барвником, зв'язаним з твердою підкладкою у відповідних умовах, за яких химерний білок за п. 1 і димер зв'язуються з лігандом-барвником;

2) видалення частини константної ділянки імуноглобуліну, що не зв'язана з лігандом-барвником;

3) зміну відповідних умов 1) для того, щоб зв'язок між химерним білком за п. 1 і лігандом-барвником, зв'язаним з твердою підкладкою, розривався;

4) елюювання химерного білка за п. 1.

170. Спосіб за п. 169, де частина імуноглобуліну є Fc-фрагментом.

171. Спосіб за п. 169, де лігандом-барвником є молекула біоміметика.

172. Спосіб за п. 169, де ліганд-барвник вибраний з Mimetic Red 1TM, Mimetic Red 2TM, Mimetic Orange 1TM, Mimetic Orange 2TM, Mimetic Orange 3TM, Mimetic Yellow 1TM, Mimetic Yellow 2TM, Mimetic Green 1TM, Mimetic Blue 1TM і Mimetic Blue 2TM.

173. Спосіб за п. 169, де химерний білок містить Еро.

174. Спосіб за п. 172 або 173, де лігандом-барвником є Mimetic Red 2TM.

175. Спосіб за п. 169, де вказаний химерний білок являє собою фактор VII або VIIa.

176. Спосіб за п. 169, де вказана біологічно активна молекула являє собою фактор VIII або фактор VIIIa.

177. Спосіб за п. 169, де химерний білок містить фактор IX.

178. Спосіб за п. 169, де химерний білок містить інтерферон.

179. Спосіб за п. 178, де химерний білок містить інтерферон α .

180. Спосіб за п. 178, де химерний білок містить інтерферон β .

181. Спосіб за п. 169, де химерний білок містить інгібітор злиття ВІЛ.

182. Спосіб за п. 172 або 178, де лігандом-барвником є Mimetic Green 1TM.

183. Спосіб за п. 169, де відповідні умови включають буфер, який має рН в діапазоні 4-9 включно.

184. Спосіб за п. 183, де зміна відповідних умов полягає в додаванні щонайменше однієї солі до буфера в концентрації, достатній для руйнування зв'язку гібриду мономер-димер з лігандом-барвником з виділенням, таким чином, гібриду мономер-димер.

185. Спосіб за п. 184, де щонайменше однією сіллю є NaCl.

186. Спосіб за п. 183, де буфер має рН 8.

187. Спосіб за п. 186, де концентрація солі становить 400 мМ, і химерний білок містить Еро.

188. Спосіб за п. 184, що додатково включає додавання більш високої концентрації солі у порівнянні з концентрацією солі, яка руйнує зв'язок гібриду мономер-димер з лігандом-барвником так, що більш висока концентрація солі руйнує зв'язок димеру з лігандом-барвником з виділенням, таким чином, димеру.

189. Химерний білок, що містить перший і другий поліпептидні ланцюги, де

вказаний перший ланцюг містить ЕРО, восьмиамінокислотний лінкер, що містить амінокислотну послідовність EFAGAAAV, і Fc-фрагмент константної ділянки імуноглобуліну, що містить мутацію аспарагіну в аланін у положенні 297; і де вказаний другий ланцюг містить Fc-фрагмент константної ділянки імуноглобуліну, що містить мутацію аспарагіну в аланін у положенні 297.

190. Химерний білок за п. 189, який додатково містить афінну мітку.

191. Химерний білок, що містить перший і другий поліпептидні ланцюги, де вказаний перший ланцюг містить фактор VIII або фактор VIIa, восьмиамінокислотний лінкер, що має амінокислотну послідовність EFAGAAAV, і Fc-фрагмент константної ділянки імуноглобуліну, що містить мутацію аспарагіну в аланін у положенні 297; і де вказаний другий ланцюг містить Fc-фрагмент константної ділянки імуноглобуліну, що містить мутацію аспарагіну в аланін у положенні 297.

192. Химерний білок за п. 191, який додатково містить афінну мітку.

193. Химерний білок, що містить перший і другий поліпептидні ланцюги, де вказаний перший ланцюг містить фактор IX, восьмиамінокислотний лінкер, що має амінокислотну послідовність EFAGAAAV, і Fc-фрагмент константної ділянки імуноглобуліну, що містить мутацію аспарагіну в аланін у положенні 297; і де вказаний другий ланцюг містить Fc-фрагмент константної ділянки імуноглобуліну, що містить мутацію аспарагіну в аланін у положенні 297.

194. Химерний білок за п. 193, який додатково містить афінну мітку.