



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **120034** (13) **C2**
(51) МПК (2019.01)

C07K 14/47 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

C07K 19/00

C12N 15/13 (2006.01)

C12N 15/52 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

A61P 37/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2015 08877**

(22) Дата подання заявки: **12.03.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: **25.09.2019**

(31) Номер попередньої
заявки відповідно до
Парижської конвенції: **61/780,260,
61/942,776**

(32) Дата подання
попередньої заявки
відповідно до
Парижської конвенції: **13.03.2013,
21.02.2014**

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

(41) Публікація відомостей
про заявку: **11.04.2016, Бюл.№ 7**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.09.2019, Бюл.№ 18**

(86) Номер та дата
подання міжнародної
заявки, поданої
відповідно до
Договору РСТ **PCT/US2014/024908,
12.03.2014**

(72) Винахідник(и):
**Хсу Хайлін (US),
Чжан Мін (US),
Каннан Гунасекаран (US),
Джейкобсен Фредерік У. (US),
Цудзі Уейн (US)**

(73) Власник(и):
**ЕМДЖЕН ІНК.,
One Amgen Center Drive, Thousand Oaks, CA
91320-1799, United States of America (US)**

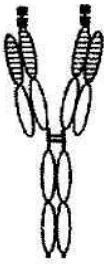
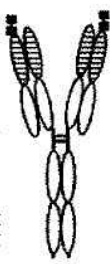
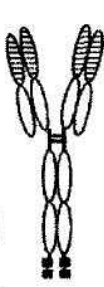
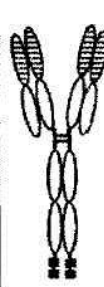
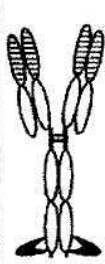
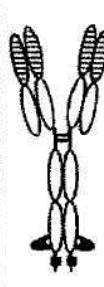
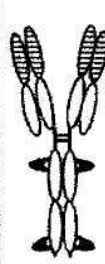
(74) Представник:
**Шляховецький Ілля Олександрович,
реєстр. №190**

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
WO 2006010057 A2, 26.01.2006
New Targets in Systemic Lupus (Part 2/2) / Walter
A. Sifuentes Giraldo, María J. García Villanueva,
Alina L. Boteanu et al. // Reumatologia Clinica. –
2012. – Vol. 8(5). – P. 263–269
Davidson A. The Rationale for BAFF Inhibition in
Systemic Lupus Erythematosus / Anne Davidson //
Current Rheumatology Reports. – 2012. – Vol. 14. –
P. 295–302
WO 2006036834 A2, 06.04.2006
WO 2007011941 A2, 25.01.2007
Down-regulation of ICOS ligand by interaction with
ICOS functions as a regulatory mechanism for
immune responses / Masashi Watanabe, Yuri
Takagi, Motoko Kotani et al. // The Journal of
Immunology. – 2008. – Vol. 180. – P. 5222–5234
Noncanonical NF-κB regulates inducible
costimulator (ICOS) ligand expression and T
follicular helper cell development / Hongbo Hua,
Xuefeng Wua, Wei Jina et al. // PNAS. – 2011. –
Vol. 108 (31). – P. 12827–12832
US 2011014189 A1, 20.01.2011
B cell activating factor (BAFF) and T cells cooperate
to breach B cell tolerance in lupus-prone new
zealand black (NZB) mice / Nan-Hua Chang, Yui-Ho
Cheung, Christina Loh et al. // PLoS ONE. – 2010. –
Vol. 5 (7). – P. e11691

UA 120034 C2

(54) БІСПЕЦИФІЧНИЙ БІЛОК ДО BAFF ТА B7RP1**(57) Реферат:**

Винахід стосується біспецифічного білка, що містить поліпептид, який містить амінокислотну послідовність, що має наступну формулу: A-L1-P-L2-P, де А являє собою важкий ланцюг антитіла IgG, L1 являє собою перший пептидний лінкер, який відсутній або довжина якого становить від 3 до 40 амінокислот, Р являє собою BAFF-зв'язуючий пептид, довжина якого становить від 10 до 40 амінокислот, та L2 являє собою другий пептидний лінкер, який відсутній або довжина якого складає від 5 до 50 амінокислот; та легкий ланцюг імуноглобуліну антитіла IgG; причому важкий ланцюг імуноглобуліну та легкий ланцюг імуноглобуліну формують антитіло IgG, яке зв'язується з B7RP1, при цьому даний білок містить дві молекули поліпептиду та дві молекули легкого ланцюга. Також винахід стосується фармацевтичної композиції, нуклеїнової кислоти, вектора, клітини-хазяїна, способу одержання біспецифічного білка та застосування біспецифічного білка або фармацевтичної композиції для лікування системного червоного вовчака, вовчакового нефриту або ревматоїдного артриту.

Назва конструкції	P71917	P71618	P71619	P71620	P71621	P71622	P71523
Характеристика конструкції	N-злиття- HC	N- злиття - LC	C-злиття- 1K	C-злиття - G4S	2×Fc-петля	1×Fc-петля 1×C- злиття	1×CH2 1×CH3
Структура конструкції							

Фіг. 1

ПЕРЕХРЕСНЕ ПОСИЛАННЯ НА СПОРІДНЕНІ ЗАЯВКИ

У цій заявці заявлений пріоритет за попередньою заявкою на патент США № 61/780260, поданої 13 березня 2013 року, та № 61/942776, поданої 21 лютого 2014 року, кожна з яких включена в даний документ за допомогою посилання у всій своїй повноті.

5 ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

Біспецифічні молекули, описані в цьому документі, відносяться до галузі одержання терапевтичних засобів білкової природи.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

10 Більшість терапевтичних білків зв'язуються з одним білком-мішенню з високою специфічністю, тим самим пригнічуючи активність цього одного білка-мішені. Цей білок може брати участь в одному або декількох біологічних шляхах, які опосередковують розвиток захворювання у людини, яке лікують, і, таким чином, терапевтичний білок може пригнічувати прогресування хвороби. Однак, ефективність терапевтичних білків рідко буває достатньою для всіх пацієнтів. Недостатня ефективність терапевтичних білків у деяких випадках може бути обумовлена складністю захворювання. Наприклад, деякі захворювання можуть бути опосередковані багатьма біологічними шляхами, або різні біологічні шляхи можуть відігравати основну роль в активності захворювань у різних пацієнтів, що характеризуються однаковим клінічно визначеним станом. Отже, при деяких захворюваннях перевага може полягати в одночасному інгібуванні щонайменше двох біологічних шляхів.

20 СУТЬ ВИНАХОДУ

У цьому документі запропонований біспецифічний білок, який може зв'язуватися та інгібувати біологічну активність і В7-спорідненого білка 1 людини (B7RP1, також відомий як GL50 та костимулюючий ліганд Т-клітин (ICOSLG)), і фактора активації В-клітин людини (BAFF, також відомий як представник 13b (TNFSF13B) надродини факторів некрозу пухлини). BAFF відіграє деяку роль у виживаності В-клітин, а B7RP1 відіграє деяку роль у костимуляції Т-клітин. Отже, білок, який інгібує активність обох зазначених білків, пригнічує активність як В-, так і Т-клітин.

У цьому документі описаний біспецифічний білок, причому зазначений білок може інгібувати BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин людини, та причому зазначений білок може інгібувати B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин людини. Біспецифічний білок може являти собою антитіло IgG, що містить два важкі ланцюги імуноглобуліну, що мають різні амінокислотні послідовності, і два легкі ланцюги імуноглобуліну, що мають різні амінокислотні послідовності. Антитіло IgG може інгібувати BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин людини та B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин людини. Антитіло IgG може являти собою IgG1, IgG2, IgG3 або антитіло IgG4 та може являти собою людське або гуманізоване антитіло IgG. Біспецифічний білок може містити ділянку 1, що визначає комплементарність легкого ланцюга (CDR1), яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:8, ділянку 2, що визначає комплементарність, легкого ланцюга (CDR2), яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:9, ділянку 3, що визначає комплементарність, легкого ланцюга (CDR3), яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:10, CDR1 важкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:11, CDR2 важкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:12, та CDR3 важкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:13. Крім того, біспецифічний білок може містити варіабельний домен важкого ланцюга, який має послідовність SEQ ID NO:15 або її варіант, та варіабельний домен легкого ланцюга, який містить SEQ ID NO:14 або її варіант. Такі варіанти послідовностей можуть містити не більше 10 делецій, вставок і заміщень однієї амінокислоти на 100 амінокислот у порівнянні із еталонною послідовністю.

В альтернативному варіанті реалізації винаходу біспецифічний білок, який може інгібувати BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин людини та який може інгібувати B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин людини, може містити: (а) поліпептид, який має амінокислотну послідовність, що має наступну формулу: A-L1-P-L2-P, де А являє собою імуноглобуліновий важкий ланцюг антитіла IgG, L1 являє собою перший лінкер, який відсутній або довжина якого становить від 3 до 40 амінокислот, Р являє собою BAFF-зв'язуючий пептид, довжина якого становить від 10 до 40 амінокислот, і L2 являє собою лінкерний пептид, який відсутній або довжина якого становить від 5 до 50 амінокислот; та (б) легкий ланцюг імуноглобуліну. Важкий ланцюг імуноглобуліну (а) та легкий ланцюг імуноглобуліну (б) можуть формувати антитіло IgG, що містить дві молекули поліпептиду (а) та дві молекули легкого ланцюга (б), які можуть зв'язуватися з B7RP1 та/або можуть інгібувати B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин людини. У важкому ланцюзі імуноглобуліну може бути відсутній лізин на С-кінці відразу перед L1. У якості антитіла IgG може виступати людське або гуманізоване

антитіло IgG1, IgG2, IgG3 або антитіло IgG4. BAFF-зв'язуючий пептид Р може мати амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 або SEQ ID NO:3. L1 може мати амінокислотну послідовність SEQ ID NO:4, 37, 38, 39 або 40. L2 може мати амінокислотну послідовність SEQ ID NO:5, 6 або 7. Біспецифічний білок може містити CDR1 легкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:8 (RASQGISNWL), CDR2 легкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:9 (AASSLQS), CDR3 легкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:10 (QQYDSYPRT), CDR1 важкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:11 (SYWMS), CDR2 важкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:12 (YIKQDGNKYYVDSVKG), та CDR3 важкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:13 (EGILWFGDLPTF). Біспецифічний білок може містити варіабельний домен легкого ланцюга імуноглобуліну, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:14, та/або варіабельний домен важкого ланцюга імуноглобуліну, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15. Біспецифічний білок може містити амінокислотну послідовність SEQ ID NO:19 або її варіант і амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17 або 18 або її варіанти. Такі варіанти послідовностей можуть містити не більше 10 делецій, вставок і заміщень однієї амінокислоти на 100 амінокислот у порівнянні із еталонною послідовністю.

У додатковому аспекті в цьому документі описаний біспецифічний білок, що містить: (а) поліпептид, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:17 або SEQ ID NO:18, або її варіанти; та (б) інший поліпептид, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:19 або її варіант. Такі варіанти послідовностей можуть містити не більше 10 делецій, вставок і заміщень однієї амінокислоти на 100 амінокислот у порівнянні із еталонною послідовністю. Біспецифічний білок може інгібувати BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин людини та B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин людини. Біспецифічний білок може являти собою тетрамер, що містить дві молекули поліпептиду (а) та дві молекули поліпептиду (б).

В іншому варіанті реалізації винаходу в цьому документі запропонований білок, що містить лінкер, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:6 або SEQ ID NO:7. У деяких варіантах реалізації винаходу цей білок може інгібувати BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин людини та/або B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин людини. Такий білок може мати амінокислотні послідовності SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:14 та/або SEQ ID NO:15. Такий білок може мати амінокислотну послідовність, що містить щонайменше дві копії SEQ ID NO:1, розділені SEQ ID NO:6 або 7. У додатковому варіанті реалізації винаходу такий білок може включати легкий ланцюг імуноглобуліну та важкий ланцюг імуноглобуліну, і SEQ ID NO:6 або 7 може розташовуватися за С-кінцем важкого ланцюга. У таких варіантах реалізації винаходу SEQ ID NO:6 або 7 можуть бути фланковані пептидами, які зв'язуються з білком, відмінним від білка, з яким зв'язані важкий та легкий ланцюги.

Крім того, у цьому документі описана фармацевтична композиція, що містить будь-які біспецифічні білки, описані в цьому документі, або білок, що містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO:6 або 7, і фізіологічно прийнятну допоміжну речовину.

Також у цьому документі описана нуклеїнова кислота, що кодує будь-який поліпептид, включений до складу одного з біспецифічних білків, або білки, що містять SEQ ID NO:6 або SEQ ID NO:7, описані в цьому документі. Ілюстративні нуклеїнові кислоти, що кодують поліпептид, включений до складу біспецифічного білка, включають, у тому числі, наприклад, SEQ ID NO: 55, 56, 60, 61, 62 та 63. Описані вектори, що містять такі нуклеїнові кислоти, та клітини-хазяї, що містять такі вектори та/або нуклеїнові кислоти. Додатково в цьому документі описаний спосіб одержання біспецифічного білка, що включає культивування клітини-хазяїна, яка містить нуклеїнову кислоту, що кодує будь-які біспецифічні білки, описані в цьому документі, у таких умовах, які забезпечують експресію нуклеїнової кислоти, та виділення білка із клітинної маси або культурального середовища. Клітина-хазяїн може являти собою клітину ссавця, наприклад, клітину CHO, або бактеріальну клітину, таку як *Escherichia coli*.

В іншому аспекті в цьому документі описаний спосіб лікування системного червоного вовчака, включаючи вовчаковий нефрит, що включає введення пацієнтові терапевтично ефективною кількістю будь-яких біспецифічних білків, описаних у цьому документі, або фармацевтичної композиції, що містить такий біспецифічний білок. Інший терапевтичний засіб можна вводити пацієнтові до, після та одночасно з біспецифічним білком. У якості іншого терапевтичного засобу може бути використаний кортикостероїд, протималарійний засіб, ретиноїва кислота, НПЗЗ, циклофосфамід, дегідроепіандростерон, мофетила мікофенолят, азатіоприн, хлорамбуцил, метотрексат, такролімус, дапсон, талідомід, лефлуномід або циклоспорин.

У додатковому аспекті в цьому документі описаний спосіб лікування, що включає введення пацієнтові терапевтично ефективної кількості будь-яких біспецифічних білків, описаних у цьому документі, або фармацевтичної композиції, що містить біспецифічний білок, описаний у цьому документі, причому пацієнт має захворювання, вибране із групи, що складається з: ANCA-позитивного васкуліту, ревматоїдного артриту (РА), хвороби Крона, виразкового коліту, целиакиї, пухирчатки, пемфігоїда, підгострого шкірного червоного вовчака (ПШЧВ), розсіяного склерозу, хронічної запальної демієлінізуючої поліневропатії (ХЗДП), міастенії гравіс, синдрому Гудпасчера, гломерулонефриту, автоімунної гемолітичної анемії (АІГА), ідіопатичної тромбоцитопенічної пурпури (ІТП), хронічного активного гепатиту, первинного біліарного цирозу печінки, синдрому Шегрена, системного склерозу, тиреоїдита Хашимото, хвороби Грейвса, хвороби Аддісона та множинної ендокринної неоплазії (МЕН).

В іншому аспекті в цьому документі описана фармацевтична композиція, що містить будь-які біспецифічні білки або білки, що містять SEQ ID NO:6 або SEQ ID NO:7, описані в цьому документі. Фармацевтична композиція може бути призначена, наприклад, для лікування системного червоного вовчака або вовчакового нефриту.

В іншому аспекті описане застосування в якості лікарської речовини будь-яких біспецифічних білків, запропонованих у цьому документі.

КОРОТКИЙ ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

Фіг. 1: схематичні зображення біспецифічних білків, які зв'язуються з BAFF та B7RP1. У верхньому рядку наведені ідентифікатори для кожної конструкції. У другому рядку наведена коротка описова фраза, що відноситься до структури кожної конструкції. У нижньому рядку представлено схематичне зображення структури кожної конструкції. Незаштриховані овали відповідають константним доменам важкого або легкого ланцюга імуноглобуліну. Овали, заштриховані горизонтальними лініями, відповідають варіабельним доменам важкого або легкого ланцюга (VH або VL) імуноглобуліну. Маленькі, зафарбовані квадрати та петлі відповідають BAFF-зв'язуючим пептидам. Шарнірні області проілюстровані у вигляді жирних вертикальних ліній, тоді як дисульфідні містки проілюстровані у вигляді жирних горизонтальних ліній. Послідовність "G4S" на фіг. 1 розкрита в SEQ ID NO:72.

Фіг. 2: активність біспецифічних білків в аналізі проліферації В-клітин людини. Дані, проілюстровані на фіг. 2А (верхня) та 2В (нижня), одержані з аналізів проліферації В-клітин, які здійснювали, як описано в прикладі 1. На обох панелях по осі x зазначена концентрація ($\log[\text{nM}]$) біспецифічного білка, який міститься в суміші, яку аналізують, а по осі y зазначена кількість включеного ^3H -тимідину (число імпульсів у хвилину (cpm)). Позначення кожного маркера зазначене у вигляді ідентифікатора для кожного проаналізованого білка. Позначення кожного ідентифікатора проілюстровано на фіг. 1 та пояснено в прикладі 1.

Фіг. 3: активність біспецифічних білків в аналізі проліферації Т-клітин людини. Проілюстровані дані одержані з аналізів проліферації Т-клітин, які здійснювали, як описано в прикладі 1. На осі x зазначена концентрація ($\log[\text{nM}]$) біспецифічного антитіла або антитіла αB7RP1 у суміші, яку аналізують, і на осі y зазначений відсотковий вміст включеного в Т-клітини ^3H -тимідину в присутності B7RP1-інгібіторів у зазначених концентраціях у порівнянні зі вмістом включеного в Т-клітини ^3H -тимідину без B7RP1-інгібіторів (у відсотках від контролю). Ідентифікатор зазначений для кожного досліджуваного білка.

Фіг. 4: вивільнення цитокінів клітинами мигдалин людини, стимульованими ентеротоксином В Staphylococcus (SEB). Способи описані в прикладі 1. На осі y показані рівні сигналу, виявленого для різних цитокінів, виміряні за допомогою наборів Meso Scale Discovery (Роквілл, Меріленд) згідно з інструкціями виробника. На клітини впливали або αB7RP1 (стовпець 1), P74293 (стовпець 2), CTLA4-Ig (стовпець 3), або IgG людини (стовпець 4). На даній фігурі зазначені проаналізовані цитокіни.

Фіг. 5: фармакокінетичний профіль біспецифічних конструкцій у мишей. Способи оцінки in vivo фармакокінетичних властивостей P71617, P71619, P71621, P71622, P74293 та P74294 у мишей описані в прикладі 1. Згідно з поясненнями, наведеними в прикладі 1, біспецифічні білки були виявлені за допомогою двох різних аналізів, в одному з яких була виявлена тільки Fc-ділянка білків (точки даних позначені зафарбованими ромбами; аналіз Fc-ділянок), і в другому з яких були виявлені як Fc-, так і BAFF-зв'язуючі ділянки білків (точки даних позначені зафарбованими квадратами; аналіз інтактних білків). На осі x зазначений час після ін'єкції (години), а на осі y зазначена концентрація білка, виявленого в сироватці (нг/мл). Конструкції, використані для введення, зазначені на кожній панелі.

Фіг. 6А: інгібування проліферації В-клітин миші проводили з використанням біспецифічної молекули - мишачої гомологічної молекули ("мишача гомологічна молекула"), яка зв'язується з BAFF та B7RP1. Аналіз здійснювався, як описано в прикладі 2. Мишача гомологічна молекула

містить антитіло IgG до B7RP1 миші, яке має дві копії BAFF-зв'язуючого пептиду, приєднаного до С-кінця важкого ланцюга антитіла, як зазначено в прикладі 2. У якості позитивного контролю слугувало BAFF-зв'язуюче пептидне антитіло ("αBAFF"). Дані для мишачої гомологічної молекули та αBAFF зазначені, відповідно, у вигляді зафарбованих кружечків та квадратів. На осі x зазначена концентрація цих досліджуваних у цьому аналізі білків (log[pM]), а на осі y зазначені результати за включенням ³H-тимідину (срм).

Фіг. 6B: інгібування зв'язування B7RP1 з Т-клітинами миші з використанням мишачої гомологічної молекули. Аналіз здійснювався, як описано в прикладі 2. Антитіло IgG до B7RP1 миші ("антитіло до mB7RP1") було використано в якості позитивного контролю. Дані, одержані для мишачої гомологічної молекули та антитіла до mB7RP1, позначені, відповідно, у вигляді зафарбованих кружечків та квадратів. На осі x відображена концентрація цих досліджуваних білків у цьому аналізі (log[pM]), а по осі y відображений відсоток B7RP1-Fc миші, що зв'язався з Т-клітинами.

Фіг. 7: вплив in vivo введення мишам еритроцитів барана на їхні імунологічні показники. Всі результати, проілюстровані на цій фігурі, взяті з аналізів, описаних у прикладі 2. Білки, які одержували миші, позначені за допомогою зафарбовування кожного стовпчика в такий спосіб: незафарбований стовпець - антитіло до mB7RP1; вертикальні лінії - αBAFF; горизонтальні лінії - антитіло до mB7RP1 на додаток до αBAFF; діагональні лінії - мишача гомологічна молекула; шахове штрихування - mIgG; та зафарбований стовпець (тільки в нижній панелі) - миші, яким не вводили ЕБ. Верхня панель - виражена у відсотках кількість В-клітин селезінки в мишей, яким вводили еритроцити барана (ЕБ). На осі y зазначена виражена у відсотках кількість клітин селезінки, які являють собою В-клітини. Середня панель - виражена у відсотках кількість CD4⁺ Т-клітин селезінки, які являють собою Т-клітини пам'яті мишей, яким вводили ЕБ. Нижня панель - рівні антитіл до ЕБ у сироватці мишей, яким вводили ЕБ.

Фіг. 8A: протеїнурія в мишей лінії NZB/NZW, на яких впливали різними білками. Способи описані в прикладі 2. Для кожної групи мишей вплив зазначений у такий спосіб: зафарбовані кружечки - фосфатно-буферний розчин (PBS); зафарбовані квадрати - IgG миші (ізотипічний контроль; 5 мг/кг); незафарбовані квадрати - антитіло до mB7RP1 (4,68 мг/кг); зафарбовані трикутники вершиною вгору - αBAFF (1,88 мг/кг); незафарбовані трикутники вершиною вгору - αBAFF (1,88 мг/кг) на додаток до антитіла до mB7RP1 (4,68 мг/кг); та незафарбовані трикутники вершиною вниз - мишача гомологічна молекула (5 мг/кг). На осі x зазначений вік мишей (місяці), а на осі y зазначений відсоток мишей із протеїнурією, тобто ≥300 мг/дл білка в сечі.

Фіг. 8B: рівні антитіл до дволанцюгової ДНК (длДНК) у мишей лінії NZB/NZW у віці 8,5 місяців, які одержали різні білки. Способи описані в Прикладі 2. На осі x зазначені ідентифікатори молекули(л), які одержали миші, що наведено нижче: 1, антитіло до mB7RP1 (4,68 мг/кг); 2, αBAFF (1,88 мг/кг); 3, αBAFF (1,88 мг/кг) на додаток до антитіла до mB7RP1 (4,68 мг/кг); 4, біспецифічні мишачі гомологічні молекули (5 мг/кг); та 5, mIgG (ізотипічний контроль; 5 мг/кг). На осі y зазначені рівні антитіл до длДНК, які були визначені у відсотках від позитивного контролю. Кожна точка слугує для позначення даних для однієї миші.

Фіг. 9A: рівні IgG до длДНК у мишей лінії NZB/NZW. Способи описані в прикладі 2. Дані для різних груп мишей представлені в такий спосіб: 1, миші, які одержували антитіло до mB7RP1 (14 мг/кг); 2, миші, які одержували αBAFF (5,6 мг/кг); 3, миші, які одержували комбінацію антитіла до mB7RP1 (14 мг/кг) та αBAFF (5,6 мг/кг); 4, миші, які одержували мишачі гомологічні молекули (15 мг/кг); 5, миші, які одержували ізотипічний контроль mIgG (15 мг/кг); та 6, миші, які одержували PBS. Зірочки вище стовпців 1, 3 та 4 позначають статистично значимі відмінності (*, p<0,05; ***p<0,0001) між даними цих стовпців та даними стовпця 5 (mIgG).

Фіг. 9B: виражена у відсотках кількість мишей F₁ лінії NZB/W, що мають протеїнурію, у кожній групі. Способи описані в прикладі 2. Дані для різних груп мишей представлені в такий спосіб: незафарбовані квадрати - миші, які одержували антитіло до mB7RP1 (14 мг/кг); зафарбовані трикутники вершиною вгору - миші, які одержували αBAFF (5,6 мг/кг); незафарбовані трикутники вершиною вгору - миші, які одержували комбінацію антитіла до mB7RP1 (14 мг/кг) та αBAFF (5,6 мг/кг); незафарбовані трикутники вершиною вниз - миші, які одержували мишачі гомологічні молекули (15 мг/кг); зафарбовані квадрати - миші, які одержували ізотипічний контроль mIgG (15 мг/кг); та зафарбовані кружечки - миші, які одержували PBS. Статистично значимі відмінності були виявлені між результатами для мишачої гомологічної молекули у порівнянні із антитілом mB7RP1 (p<0,01), αBAFF (p<0,0001) та mIgG (p<0,0001). Зазначений інтервал часу, коли здійснювався вплив.

Фіг. 10: показники патоморфологічних змін нирок мишей F₁ лінії NZB/W. Згідно з поясненнями, наведеними в прикладі 2, нирки одержували після смерті мишей, якщо це відбувалося до кінця дослідження, або наприкінці дослідження. Показники патоморфологічних

змін нирок були визначені, як описано в прикладі 2, причому високі показники свідчать про більшу тяжкість захворювання нирок. На додаток до середніх значень для кожної групи мишей показані відповідні планки похибок. Групи мишей одержували наступні антитіла: 1) антитіло до mB7RP1 (14 мг/кг), стовпець, заштрихований вертикальними лініями; 2) αBAFF (5,6 мг/кг), стовпець, заштрихований горизонтальними лініями; 3) комбінація антитіла до mB7RP1 (14 мг/кг) та αBAFF (5,6 мг/кг), стовпець зі штрихуванням у клітинку; 4) мишача гомологічна молекула (15 мг/кг), стовпець із шаховим штрихуванням; 5) mIgG (15 мг/кг), стовпець із білими крапками на чорному тлі; і 6) PBS, зафарбований стовпець.

Зірочками позначені статистично значимі відмінності між даними, одержаними для мишей, що одержували mIgG, з р-значенням <0,05 (*) або <0,001 (***).

Фіг. 11: вплив інгібування BAFF та/або B7RP1 на мишей з колаген-індукованим артритом. Способи описані в прикладі 4. П'ять груп мишей одержували досліджувані речовини, зазначені нижче: mIgG, зафарбовані квадрати, з'єднані жирними лініями; PBS, зафарбовані квадрати, з'єднані пунктирними лініями; антитіло до mB7RP1, зафарбовані кружечки, з'єднані пунктирними лініями; αBAFF, незафарбовані кружечки, з'єднані жирними лініями; та комбінація антитіла до mB7RP1 та αBAFF, зафарбовані кружечки, з'єднані жирними лініями. На верхній панелі показана виражена у відсотках частота випадків розвитку артриту для різних груп та на нижній панелі показані середні показники ступеня тяжкості артриту для цих груп. Вертикальна, спрямована вниз стрілка на кожній панелі, позначає час другої імунізації бичачим колагеном.

КОРОТКИЙ ОПИС ПЕРЕЛІКІВ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

НОМЕР ПЕРЕЛІКУ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ	ОПИС
SEQ ID NO:1	Амінокислотна послідовність BAFF-зв'язуючого пептиду.
SEQ ID NO:2	Амінокислотна послідовність BAFF-зв'язуючого пептиду.
SEQ ID NO:3	Амінокислотна послідовність BAFF-зв'язуючого пептиду.
SEQ ID NO:4	Амінокислотна послідовність лінкера.
SEQ ID NO:5	Амінокислотна послідовність лінкера.
SEQ ID NO:6	Амінокислотна послідовність лінкера.
SEQ ID NO:7	Амінокислотна послідовність лінкера.
SEQ ID NO:8	Амінокислотна послідовність CDR1 легкого ланцюга.
SEQ ID NO:9	Амінокислотна послідовність CDR2 легкого ланцюга.
SEQ ID NO:10	Амінокислотна послідовність CDR3 легкого ланцюга.
SEQ ID NO:11	Амінокислотна послідовність CDR1 важкого ланцюга.
SEQ ID NO:12	Амінокислотна послідовність CDR2 важкого ланцюга.
SEQ ID NO:13	Амінокислотна послідовність CDR3 важкого ланцюга.
SEQ ID NO:14	Амінокислотна послідовність варіабельного домену легкого ланцюга.
SEQ ID NO:15	Амінокислотна послідовність варіабельного домену важкого ланцюга.
SEQ ID NO:16	Амінокислотна послідовність важкого ланцюга біспецифічної молекули P71619 BAFF/B7RP1.

НОМЕР ПЕРЕЛІКУ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ	ОПИС
SEQ ID NO:17	Амінокислотна послідовність важкого ланцюга біспецифічної молекули P74293 BAFF/B7RP1.
SEQ ID NO:18	Амінокислотна послідовність важкого ланцюга біспецифічної молекули P74294 BAFF/B7RP1.
SEQ ID NO:19	Амінокислотна послідовність легкого ланцюга антитіла IgG до huB7RP1
SEQ ID NO:20	Амінокислотна послідовність, що передує CDR1 важкого ланцюга.
SEQ ID NO:21	Амінокислотна послідовність, що передує CDR2 важкого ланцюга.
SEQ ID NO:22	Амінокислотна послідовність, що знаходиться за CDR3 важкого ланцюга.
SEQ ID NO:23	Амінокислотна послідовність, що знаходиться за CDR3 легкого ланцюга.
SEQ ID NO:24	Лінкер
SEQ ID NO:25	Амінокислотна послідовність важкого ланцюга антитіла IgG до B7RP1.
SEQ ID NO: 26	Амінокислотна послідовність важкого ланцюга конструкції P71617.
SEQ ID NO:27	Амінокислотна послідовність важкого ланцюга конструкції P71618.
SEQ ID NO:28	Амінокислотна послідовність важкого ланцюга конструкції P71620.
SEQ ID NO:29	Амінокислотна послідовність важкого ланцюга конструкції P71621.
SEQ ID NO:30	Амінокислотна послідовність важкого ланцюга конструкції P71622.
SEQ ID NO:31	Амінокислотна послідовність важкого ланцюга конструкції P71623.
SEQ ID NO:32	Амінокислотна послідовність пептидного антитіла α BAFF
SEQ ID NO:33	Амінокислотна послідовність Fc-ділянки IgG1 людини.
SEQ ID NO:34	Амінокислотна послідовність Fc-ділянки IgG2 людини.
SEQ ID NO:35	Амінокислотна послідовність Fc-ділянки IgG3 людини.
SEQ ID NO:36	Амінокислотна послідовність Fc-ділянки IgG4 людини.
SEQ ID NO:37	Амінокислотна послідовність лінкера.
SEQ ID NO:38	Амінокислотна послідовність лінкера.
SEQ ID NO:39	Амінокислотна послідовність лінкера.
SEQ ID NO:40	Амінокислотна послідовність лінкера.
SEQ ID NO:41	Послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1.
SEQ ID NO:42	Послідовність нуклеїнової кислоти, яка кодує амінокислотну послідовність SEQ ID NO:4.

[illegible]

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС СУТІ ВИНАХОДУ

У цьому документі запропоновані біспецифічні білки, які зв'язуються та інгібують як фактор активації В-клітин людини (BAFF; також відомий як BLYS, TALL1, THANK або TNFSF13B), так і В7-споріднений білок 1 (B7RP1; також відомий як ліганд ICOS, ICOSL, LICOS, гомолог 2 В7, В7Н2 та GL50), нуклеїнові кислоти, що кодує ці біспецифічні білки, та способи одержання та застосування цих білків. Біспецифічні білки можуть інгібувати як BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин, так і В7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин. В іншому аспекті біспецифічні білки можуть інгібувати зв'язування В7RP1 з Т-клітинами. Такий біспецифічний білок може являти собою антитіло IgG із двома різними важкими ланцюгами та двома різними легкими ланцюгами, причому одна пара важкого ланцюга/легкого ланцюга зв'язується з BAFF, а інша зв'язується з В7RP1. В альтернативному варіанті В7RP1-зв'язуюча ділянка біспецифічного білка може містити антитіло IgG, що включає два ідентичні важкі ланцюги та два ідентичні легкі ланцюги, та BAFF-зв'язуюча ділянка біспецифічного білка може містити один або декілька BAFF-зв'язуючих пептидів, які можуть бути злиті з антитілом В7RP1, необов'язково через N-кінець важкого або легкого ланцюга імуноглобуліну, карбоксильний кінець важкого ланцюга імуноглобуліну та/або в межах СН2- та/або СН3-ділянки важкого ланцюга імуноглобуліну.

Визначення

У цьому документі мається на увазі, що "антитіло" являє собою білок, що містить варіабельний домен важкого та/або легкого ланцюга імуноглобуліну.

У цьому документі мається на увазі, що "біспецифічний білок" являє собою білок, який може специфічно зв'язуватися із двома різними молекулами, які в деяких варіантах реалізації винаходу являють собою білки. Наприклад, у деяких варіантах реалізації винаходу біспецифічний білок може зв'язуватися як з BAFF, так і з В7RP1.

Пацієнт одержує "паралельне" лікування двома або більше терапевтичними засобами, якщо одержує два або більше терапевтичних засобів протягом однакового періоду часу, необов'язково в один і той же час. Наприклад, якщо пацієнт регулярно приймає один терапевтичний засіб щодоби, а також регулярно приймає інший терапевтичний засіб раз на місяць, даний пацієнт одержує ці лікарські засоби паралельно. Аналогічним чином пацієнт, який приймає два різні терапевтичні засоби, кожний з яких вводять кожні два тижні, але не в один і той же день, одержує паралельне лікування двома терапевтичними засобами. Крім того, пацієнт, що регулярно одержує один терапевтичний засіб раз у тиждень та інший терапевтичний засіб раз у добу протягом усього лише трьох діб, одержує лікування цими двома терапевтичними засобами протягом короткого періоду.

У цьому документі мається на увазі, що "Fc-ділянка" являє собою димер, що складається із двох поліпептидних ланцюгів, з'єднаних одним або декількома дисульфідними зв'язками, причому кожний ланцюг містить частину або весь шарнірний домен на додаток до СН2- та СН3-домену. Кожен із поліпептидних ланцюгів називається "поліпептидним ланцюгом Fc-ділянки". Зокрема, Fc-ділянки, які передбачені для застосування в цьому винаході, являють собою Fc-ділянки IgG, які можуть являти собою Fc-ділянки IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4 ссавців, наприклад, людини. Серед Fc-ділянок IgG1 людини щонайменше відомі два алельних типи. Амінокислотні послідовності поліпептидного ланцюга Fc-ділянки можуть відрізнятися від амінокислотних послідовностей поліпептиду Fc-ділянки ссавців не більше ніж на 20, 15, 12, 10, 8, 5 або 3 заміщення, вставки або делеції однієї амінокислоти у порівнянні із амінокислотною послідовністю поліпептиду Fc-ділянки ссавців. В альтернативному варіанті або на додаток до цього, амінокислотна послідовність поліпептидного ланцюга Fc-ділянки може відрізнятися від послідовності відомого або природного поліпептидного ланцюга Fc-ділянки не більше ніж на 10 вставок, делецій або заміщень однієї амінокислоти на кожні 100 амінокислот послідовності. У деяких варіантах реалізації винаходу такі варіації можуть являти собою "зміни, що забезпечують гетеродимеризацію", які сприяють утворенню гетеродимерів у порівнянні із гомодимерами. Посилаючись на певні положення в межах поліпептидного ланцюга Fc-ділянки, використовують систему нумерації EU (Edelman et al. (1969), Proc. Natl. Acad. Sci. 63: 78-85), що проілюстроване нижче в таблиці 1 у вигляді вирівнювання поліпептидних ланцюгів Fc-ділянки IgG людини.

Таблиця 1. Вирівнювання амінокислотних послідовностей Fc-ділянок IgG людини.

IgG1	-----					
IgG2	-----					
IgG3	ELKTFPLGDTTHTCPRCPKSCDTPPPCPRCPKSCDTPPPCPRCP					
IgG4	-----					
	225	235	245	255	265	275
	*	*	*	*	*	*
IgG1	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKKDTLMI	SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF				
IgG2	ERKCCVE---CPPCPAPPVA-GPSVFLFPPPKKDTLMI	SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF				
IgG3	EPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPPKKDTLMI	SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF				
IgG4	ESKYG---PPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPPKKDTLMI	SRTPEVTCVVVDVSEDPEVQF				
	285	295	305	315	325	335
	*	*	*	*	*	*
IgG1	NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD	WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT				
IgG2	NWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQD	WLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT				
IgG3	KWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD	WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT				
IgG4	NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQD	WLNGKEYKCKVSNKGLPSSTIEKT				
	345	355	365	375	385	395
	*	*	*	*	*	*
IgG1	ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF	YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP				
IgG2	ISKTKGQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGF	YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP				
IgG3	ISKTKGQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGF	YPSDIAVEWESGSGQPENNYNTTP				
IgG4	ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF	YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP				
	405	415	425	435	445	
	*	*	*	*	*	
IgG1	PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEAL	HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:33)				
IgG2	PMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEAL	HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:34)				
IgG3	PMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEAL	NRFTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:35)				
IgG4	PVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEAL	HNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:36)				

У деяких положеннях можуть зустрічатися природні поліморфізми. Наприклад, метіонін у положенні 282 у наведеній вище послідовності IgG2 частіше являє собою валін у природних послідовностях IgG2. Аналогічним чином тирозин у положенні 296 у послідовності IgG3 також може являти собою фенілаланін.

Термін "зміни, що забезпечують гетеродимеризацію", у цілому, відноситься до змін в CH3-ділянках двох різних важких ланцюгів IgG, які сприяють утворенню гетеродимерних димерів важких ланцюгів, тобто в димеризованих важких ланцюгах відсутні ідентичні амінокислотні послідовності. Зміни, що забезпечують гетеродимеризацію, можуть бути асиметричними, тобто один важкий ланцюг, що містить певну зміну, може утворювати пару з іншим важким ланцюгом, що містить іншу зміну. Ці зміни сприяють гетеродимеризації та заважають гомодимеризації. Одним із прикладів таких парних змін, що забезпечують гетеродимеризацію, є так звані заміщення по типу "виступи та западини". Див., наприклад, патент США № 7695936 та публікацію заявки на патент США 2003/0078385, у фрагментах яких описані такі мутації та які включені в даний документ за допомогою посилання. У цьому документі мається на увазі, що в парі важкий ланцюг/важкий ланцюг, у якій міститься одна пара заміщень по типу виступів та западин, міститься одне заміщення в одному важкому ланцюзі та інше заміщення в іншому важкому ланцюзі. Наприклад, було виявлено, що наступні заміщення по типу виступи та западини збільшують утворення гетеродимерів у порівнянні із тим, що було виявлено для немодифікованих важких ланцюгів. 1) Y407T в одному ланцюзі та T366Y в іншому; 2) Y407A в одному ланцюзі та T366W в іншому; 3) F405A в одному ланцюзі та T394W в іншому; 4) F405W в одному ланцюзі та T394S в іншому; 5) Y407T в одному ланцюзі та T366Y в іншому; 6) T366Y та F405A в одному ланцюзі та T394W та Y407T в іншому; 7) T366W та F405W в одному ланцюзі та T394S та Y407A в іншому; 8) F405W та Y407A в одному ланцюзі та T366W та T394S в іншому; та 9) T366W в одному поліпептиді Fc та T366S, L368A, та Y407V в іншому. У цьому документі мається на увазі, що мутації в Fc-поліпептиді позначені в такий спосіб. За амінокислотою (позначеною з використанням однобуквенного коду), що звичайно присутня у конкретному положенні в CH3-ділянці, позначений з використанням системи нумерації EU (яка представлена в Edelman et al. (1969), Proc. Natl. Acad. Sci. 63: 78-85), знаходиться амінокислота з номером положення згідно з EU, за якою знаходиться альтернативна амінокислота, яка присутня у цьому положенні. Наприклад, Y407T означає, що тирозин, який звичайно присутній у положенні 407 згідно з EU, заміщений на треонін. Для повної ясності система нумерації EU проілюстрована нижче в таблиці 1. У якості альтернативи або на додаток до таких змін, заміщення, при яких утворюються нові дисульфідні містки, можуть сприяти утворенню гетеродимерів. Див., наприклад, публікацію заявки на патент США 2003/0078385, у фрагментах якої описані такі мутації та яка включена в даний документ за допомогою посилання. Такі зміни в Fc-ділянці IgG1 включають, наприклад, наступні заміщення: Y349C в одному поліпептидному ланцюзі Fc-ділянки та S354C в іншому; Y349C в одному поліпептидному ланцюзі Fc-ділянки та E356C в

іншому, Y349C в одному поліпептидному ланцюзі Fc-ділянки та E357C в іншому; L351C в одному поліпептидному ланцюзі Fc-ділянки та S354C в іншому; T394C в одному поліпептидному ланцюзі Fc-ділянки та E397C в іншому; або D399C в одному поліпептидному ланцюзі Fc-ділянки та K392C в іншому. Аналогічним чином заміщення, при яких змінюється заряд одного або декількох залишків, наприклад, на місці з'єднання CH₃-CH₃ можуть підсилювати утворення гетеродимерів згідно з поясненнями, наведеними в WO 2009/089004, у фрагментах якого описані такі заміщення та який включений у даний документ за допомогою посилання. Такі заміщення в цьому документі називаються "парними заміщеннями зі зміною заряду", і Fc-ділянка, яка містить одне парне заміщення зі зміною заряду, містить одне заміщення в одному важкому ланцюзі та інше заміщення в іншому. Загальні приклади парних заміщень зі зміною заряду включають наступні: 1) R409D, R409E, K409D або K409E в одному ланцюзі на додаток до D399K або D399R в іншому; 2) N392D, N392E, K392D або K392E в одному ланцюзі на додаток до D399K або D399R в іншому; 3) K439D або K439E в одному ланцюзі на додаток до E356K, E356R, D356K або D356R в іншому; та 4) K370D або K370E в одному ланцюзі на додаток до E357K або E357R в іншому. На додаток до цього, заміщення Q355D, Q355E, R355D, R355E, K360D або K360R в обох ланцюгах можуть стабілізувати гетеродимери при використанні з іншими змінами, що забезпечують гетеродимеризацію. Такі парні заміщення зі зміною заряду можуть бути використані або окремо, або з іншими парними заміщеннями зі зміною заряду. Конкретні приклади одиночних парних заміщень зі зміною заряду або їхніх комбінацій включають наступні: 1) K409E в одному ланцюзі на додаток до D399K в іншому; 2) K409E в одному ланцюзі на додаток до D399R в іншому; 3) K409D в одному ланцюзі на додаток до D399K в іншому; 4) K409D в одному ланцюзі на додаток до D399R в іншому; 5) K392E в одному ланцюзі на додаток до D399R в іншому; 6) K392E в одному ланцюзі на додаток до D399K в іншому; 7) K392D в одному ланцюзі на додаток до D399R в іншому; 8) K392D в одному ланцюзі на додаток до D399K в іншому; 9) K409D та K360D в одному ланцюзі на додаток до D399K та E356K в іншому; 10) K409D та K370D в одному ланцюзі на додаток до D399K та E357K в іншому; 11) K409D та K392D в одному ланцюзі на додаток до D399K, E356K та E357K в іншому; 12) K409D та K392D в одному ланцюзі та D399K в іншому; 13) K409D та K392D в одному ланцюзі на додаток до D399K та E356K в іншому; 14) K409D та K392D в одному ланцюзі на додаток до D399K та E357K в іншому; 15) K409D та K370D в одному ланцюзі на додаток до D399K та E357K в іншому; 16) D399K в одному ланцюзі на додаток до K409D та K360D в іншому; та 17) K409D та K439D в одному ланцюзі на додаток до D399K та E356K в іншому. Будь-які із цих змін, що забезпечують гетеродимеризацію, можуть стосуватися важкого ланцюга імуноглобуліну IgG, що описано в цьому документі.

У цьому документі мається на увазі, що "людське" антитіло або білок являє собою антитіло або білок, що кодується послідовністю нуклеїнової кислоти людини. Людське антитіло або білок можуть бути одержані з використанням будь-яких культивованих клітин, крім клітин людини, або *in vivo* у трансгенному організмі, у клітині якого була введена молекула нуклеїнової кислоти, яка кодує людське антитіло або білок. В альтернативному варіанті людське антитіло або білок можуть бути одержані з використанням культивованих клітин людини або з організму людини *in vivo*.

У цьому документі мається на увазі, що "антитіло IgG" являє собою антитіло, яке, по суті, складається з доменів імуноглобуліну, присутніх у більшості антитіл IgG природного походження, тобто з важкого ланцюга імуноглобуліну, який містить варіабельний домен важкого ланцюга (VH), перший константний домен важкого ланцюга (CH1), шарнірну область, другий константний домен важкого ланцюга (CH2) та третій константний домен важкого ланцюга (CH3), та легкого ланцюга, який містить варіабельний домен легкого ланцюга (VL) та константний домен легкого ланцюга (CL). У науковій літературі повідомляється про численні послідовності таких доменів імуноглобуліну, наприклад, Sequences of Immunological Interest, Public Health Service, N.I.H., Bethesda, MD, 1991. У цьому документі мається на увазі, що антитіло IgG являє собою тетрамер, що, по суті, складається із двох важких ланцюгів та двох легких ланцюгів. У цьому документі мається на увазі, що антитіла природного походження, які містять два важкі ланцюги імуноглобуліну та які не містять легких ланцюгів, як, наприклад, деякі антитіла, характерні для верблюдів і акул (див., наприклад, Muyldermans et al, 2001, J. Biotechnol. 74:277-302; Desmyter et al, 2001, J. Biol. Chem. 276:26285-90; Streltsov et al. (2005), Protein Science 14: 2901-2909), не є антитілами IgG. Антитіло IgG може являти собою антитіло людини або може належати іншому виду. На додаток до цього, антитіло IgG може містити не більш ніж 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 або 5 заміщень, вставок та/або делецій однієї амінокислоти у порівнянні із амінокислотною послідовністю важкого або легкого ланцюгів антитіла IgG природного походження.

"Важкий ланцюг імуноглобуліну" відноситься до важкого ланцюга антитіл IgG, IgA, IgM, IgE або IgD або їхніх варіантів, що містять не більш ніж 40, 30, 25, 20, 15, 10 або 5 вставок, делецій або заміщень однієї амінокислоти у порівнянні із важким ланцюгом імуноглобуліну, що кодується послідовностями нуклеїнової кислоти природного походження. "Важкий ланцюг імуноглобуліну IgG" обмежується важкими ланцюгами з антитіл IgG або їхніх варіантів, що містять не більш ніж 40, 30, 25, 20, 15, 10 або 5 вставок, делецій або заміщень однієї амінокислоти у порівнянні із важким ланцюгом імуноглобуліну IgG, що кодується послідовностями нуклеїнової кислоти природного походження. Важкий ланцюг імуноглобуліну, по суті, складається з ряду різних ділянок або доменів, включаючи VH-ділянку, CH1-ділянку, шарнірну область, CH2-ділянку та CH3-ділянку. У деяких інших ізотипах, тобто IgM та IgA, включені додаткові області за CH3-ділянку. Важкі ланцюги та ділянки імуноглобулінів, що входять до їхнього складу, у цілому, описані, наприклад, в Carayannopoulos and Capra, *Immunoglobulins: Structure and Function*, pp. 283-314 в *Fundamental Immunology*, 3rd Ed, Paul, ed., Raven Press, New York, 1993, який включений у даний документ за допомогою посилання. На додаток до цього, у даній галузі техніки відомі численні послідовності підділянок важких ланцюгів імуноглобуліну. Див., наприклад, Kabat et al, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD, 1991. У деяких випадках поліпептидний ланцюг, який включає важкий ланцюг імуноглобуліну на додаток до деяких послідовностей неімуноглобулінової природи, у цьому документі називається "важким ланцюгом".

У цьому документі мається на увазі, що "легкий ланцюг імуноглобуліну" являє собою каппа- або лямбда- ланцюг з людського антитіла або антитіла, одержаного з інших видів. У цьому документі мається на увазі, що серед легких ланцюгів імуноглобуліну також включені білки з не більш ніж 20, 15, 10 або 5 вставками, делеціями та/або заміщеннями однієї амінокислоти у порівнянні із легким ланцюгом імуноглобуліну, що кодується послідовностями нуклеїнової кислоти природного походження. Легкі ланцюги імуноглобулінів, у цілому, описані, наприклад, в Carayannopoulos and Capra, *Immunoglobulins: Structure and Function*, pp. 283-314 в *Fundamental Immunology*, 3rd Ed, Paul, ed., Raven Press, New York, 1993, який включений у даний документ за допомогою посилання. Легкий ланцюг імуноглобуліну містить VL-ділянку та CL-ділянку. У даній галузі техніки відомо багато послідовностей цих ділянок. Див., наприклад, Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD, 1991. У деяких випадках поліпептидний ланцюг, який включає легкий ланцюг імуноглобуліну на додаток до деяких послідовностей неімуноглобулінової природи, у цьому документі називається "легким ланцюгом".

У цьому документі мається на увазі, що "варіабельний домен імуноглобуліну" являє собою VH- або VL-домен, який може бути людського походження або може належати іншому виду. Варіабельні домени імуноглобулінів, у цілому, описані, наприклад в Carayannopoulos and Capra, *Immunoglobulins: Structure and Function*, pp. 283-314 в *Fundamental Immunology*, 3rd Ed, Paul, ed., Raven Press, New York, 1993, який включений у даний документ за допомогою посилання. У цьому документі мається на увазі, що серед варіабельних доменів імуноглобулінів також включені білки з не більш ніж 20, 15, 10 або 5 вставками, делеціями та/або заміщеннями однієї амінокислоти у порівнянні із варіабельним доменом імуноглобулінів, що кодується послідовностями нуклеїнової кислоти природного походження. Варіабельний домен імуноглобулінів містить три гіперваріабельні ділянки, відомі як ділянка 1, що визначає комплементарність (CDR1), ділянка 2, що визначає комплементарність (CDR2), та ділянка 3, що визначає комплементарність (CDR3). Ці ділянки формують антигензв'язуючий сайт антитіла. CDR вбудовані в менш варіабельні каркасні ділянки (FR1-FR4). Порядок цих підділянок у межах варіабельного домену представлений нижче: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. У даній галузі техніки відомо багато варіабельних доменів імуноглобулінів. Див., наприклад, Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD, 1991.

CDR можуть розташовуватися в послідовності VH-ділянки в такий спосіб. CDR1 починається із близько 31-го залишку зрілої VH-ділянки та зазвичай має довжину близько 5-7 амінокислот та майже завжди їй передуює Cys-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx-Xxx (SEQ ID NO:20) (де "Xxx" являє собою будь-яку амінокислоту). Залишок, що знаходиться за CDR1 важкого ланцюга, майже завжди являє собою триптофан, часто Trp-Val, Trp-Ile або Trp-Ala. Чотирнадцять амінокислот майже завжди розташовані між останнім залишком в CDR1 та першим в CDR2, і CDR2 зазвичай містить від 16 до 19 амінокислот. CDR2 безпосередньо може передувати Leu-Glu-Trp-Ile-Gly (SEQ ID NO:21) та безпосередньо за нею може знаходитися Lys/Arg-Leu/Ile/Val/Phe/Thr/Ala-Thr/Ser/Ile/Ala. Інші амінокислоти можуть передувати або знаходитися за CDR2. Тридцять дві амінокислоти майже завжди розташовані між останнім залишком в CDR2 та першим в CDR3, і довжина CDR3 зазвичай становить від близько 3 до 25 амінокислот. Cys-Xxx-Xxx майже завжди

безпосередньо передує CDR3, та Trp-Gly-Xxx-Gly (SEQ ID NO: 22) майже завжди знаходиться за CDR3.

CDR легкого ланцюга можуть бути розташовані в VL-області в такий спосіб. CDR1 починається із близько 24-го залишку зрілого антитіла та майже завжди її довжина становить від близько 10 до 17 залишків. Майже завжди їй передує Cys. Майже завжди між останнім залишком CDR1 та першим залишком CDR2 розташовано 15 амінокислот, та довжина CDR2 майже завжди становить 7 залишків. CDR2 звичайно передує Ie-Tyr, Val-Tyr, Ile-Lys або Ile-Phe. Майже завжди між CDR2 та CDR3 розташовано 32 залишки, та довжина CDR3 зазвичай становить від 7 до 10 амінокислот. Майже завжди CDR3 передує Cys, та звичайно за нею знаходиться Phe-Gly-Xxx-Gly (SEQ ID NO:23).

У цьому документі мається на увазі, що "лінкер" являє собою пептид, який зв'язує два поліпептиди. Довжина лінкера може складати 1-80 амінокислот. У деяких варіантах реалізації винаходу довжина лінкера може складати 2-40, 3-30 або 3-20 амінокислот. У деяких варіантах реалізації винаходу лінкер може являти собою пептид, довжина якого становить не більш ніж 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 або 5 амінокислот. В інших варіантах реалізації винаходу довжина лінкера може складати 5-25, 5-15, 10-20 або 20-30 амінокислот. В інших варіантах реалізації винаходу довжина лінкера може складати близько 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 або 30 амінокислот. У багатьох випадках у лінкерах відсутні залишки цистеїну (тобто вони, таким чином, не залучені до утворення дисульфідних зв'язків), та також вони не містять сайтів N-глікозилювання (тобто Asn - Xxx - Ser/Thr, де X може являти собою будь-яку амінокислоту, крім проліну).

У цьому документі мається на увазі, що "пептидне антитіло" являє собою один або декілька біологічно активних пептидів, злитих з Fc-ділянкою. Shimamoto et al (2012), mAbs 4(5): 586-591, фрагменти якого, де пояснюється структура пептидного антитіла та як його одержати, включені в даний документ за допомогою посилання.

У цьому документі мається на увазі, що "пептид" являє собою поліпептид, який складається з короткої амінокислотної послідовності, яка може бути або не бути глікозилюваною та/або містити модифіковані амінокислоти. Довжина пептиду може складати від 2 до 75 амінокислот. У деяких варіантах реалізації винаходу довжина пептиду становить 3-60, 3-50, 3-40, 3-30 або 3-20 амінокислот. В інших варіантах реалізації винаходу довжина пептиду може складати 5-25, 5-15, 10-20 або 20-30 амінокислот. В інших варіантах реалізації винаходу довжина пептиду може складати близько 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 або 30 амінокислот.

"Терапевтично ефективна кількість" лікарської речовини, що використовується для лікування захворювання - це кількість, яка може забезпечувати зменшення тяжкості захворювання, зменшення тяжкості одного або декількох симптомів, асоційованих із захворюванням або його лікуванням, або затримувати появу більш важких симптомів або більше тяжкого захворювання, яке може виникати з деякою частотою після лікування захворювання.

"Лікування" будь-якого захворювання, зазначеного в цьому документі, охоплює полегшення щонайменше одного симптому захворювання, зменшення тяжкості захворювання, затримку або запобігання розвитку захворювання до більш важких симптомів, які в деяких випадках можуть супроводжувати захворювання або призводити щонайменше до появи ще одного захворювання. Під лікуванням не мається на увазі повне вилікування захворювання. Необхідно, щоб придатний до використання терапевтичний засіб зменшував тяжкість захворювання, одного або декількох симптомів, асоційованих із захворюванням або його лікуванням, або затримувати появу більш важких симптомів або більш тяжкого захворювання, які можуть виникати з деякою частотою після лікування захворювання. Наприклад, якщо захворювання являє собою запальне захворювання кишечника, терапевтичний засіб, який використовується для лікування, може зменшувати кількість окремих вогнищ запалення в кишечнику або загальний ступінь ураження кишечника. Він може зменшувати біль та/або набряк, зменшувати симптоми, як, наприклад, понос, запор або блювоту, та/або запобігати перфорації кишечника. Стан пацієнта можна оцінити за допомогою стандартних методів, таких як рентгеноскопія, яка проводиться після барієвої клізми або субквального промивання кишечника, ендоскопія, колоноскопія та біопсія. Вибір підходящого методу буде залежати від стану та симптомів пацієнта. Аналогічним чином, якщо захворювання являє собою системний червоний вовчак (СЧВ), активність захворювання можна оцінити з використанням індексу SLEDAI для бальної оцінки, що пояснюється нижче.

Біспецифічні білки, які зв'язуються з BAFFm B7RP1

У цьому документі розкриті біспецифічні білки, які зв'язуються з B7RP1 та BAFF та/або які можуть інгібувати B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин та BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин *in vitro*. Білки BAFF та B7RP1, з якими зв'язується біспецифічний білок, який описаний у цьому документі, можуть являти собою людські білки або належати іншому

5

виду, як, наприклад, у числі інших яванський макак, макак-резус, шимпанзе, миша та/або кролик. У деяких варіантах реалізації винаходу біспецифічний білок, який описаний у цьому документі, наприклад, може зв'язуватися з білками B7RP1 та BAFF як людини (*Homo sapiens*), так і яванського макака (*Macaca fascicularis*).

У деяких варіантах реалізації винаходу ці біспецифічні білки можуть являти собою біспецифічні антитіла IgG, у яких кожна B7RP1 -зв'язуюча ділянка та BAFF-зв'язуюча ділянка, по суті, складається з важкого ланцюга імуноглобуліну IgG та легкого ланцюга імуноглобуліну. Отже, таке біспецифічне антитіло містить два різні важкі ланцюги імуноглобуліну та два різні легкі ланцюги імуноглобуліну. У цілому, ці дві пари важкого та легкого ланцюгів імуноглобуліну формують повне біспецифічне антитіло IgG. Біспецифічні антитіла IgG відомі в даній галузі

10

15

20

25

техніки та також відомий цілий ряд інших форм біспецифічних антитіл. Див., наприклад, Kontermann, Bispecific Antibodies: Developments and Current Perspectives, pp. 1-28 in Bispecific Antibodies, Kontermann, ed., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2011, у фрагментах якого описані такі антитіла та який включений у даний документ за допомогою посилання. У цьому винаході передбачене застосування антитіл, які можуть зв'язуватися з BAFF та B7RP1 незалежно від форми. Біспецифічні антитіла IgG можуть бути людськими, гуманізованими або химерними та можуть належати до ізотипу IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4. У деяких варіантах реалізації винаходу біспецифічні антитіла IgG можуть бути кон'юговані з іншими групами. Амінокислотні послідовності антитіл до BAFF та B7RP1 відомі в даній галузі техніки. Дме., наприклад, патент США 7737111 та публікацію заявки на патент США 2011/0117093. Фрагменти цих документів, у яких описані такі антитіла, включені в даний документ за допомогою посилання. У деяких варіантах реалізації винаходу в таких біспецифічних антитілах можуть відбуватися "зміни, що забезпечують гетеродимеризацію", які були описані вище, включаючи парні заміщення зі зміною заряду, які сприяють утворенню гетеротетрамерного біспецифічного антитіла IgG.

В інших варіантах реалізації винаходу біспецифічні білки, описані в цьому документі, можуть являти собою злиті білки, що містять антитіло, яке зв'язується з B7RP1, що містить важкий ланцюг імуноглобуліну IgG і легкий ланцюг імуноглобуліну, та пептид, який зв'язується з BAFF. BAFF-зв'язуючий пептид може бути присутнім в одній або декількох копіях, як, наприклад, двох, трьох, чотирьох, п'яти, шести, семи, восьми або аж до 16 копій. BAFF-зв'язуючий пептид може зв'язуватися з BAFF-білками, що належать видам, таким як миша, яванський макак та/або людина серед багатьох інших можливих видів. Антитіло може являти собою антитіло IgG до B7RP1, необов'язково людське або гуманізоване антитіло, яке зв'язується з B7RP1 людини та/або яванського макака. У деяких варіантах реалізації винаходу до С-кінця важкого ланцюга антитіла IgG до B7RP1 може бути приєднаний лінкер з наступним першим BAFF-зв'язуючим пептидом, іншим лінкером та другим BAFF-зв'язуючим пептидом. За цими двома пептидами

35

40

45

50

55

можуть знаходитися чотири, п'ять, шість, сім, вісім або аж до шістнадцяти BAFF-зв'язуючих пептидів, що необов'язково перемежуються лінкерами. В альтернативному варіанті або на додаток до цього, один, два, три, чотири, п'ять, шість, сім або вісім BAFF-зв'язуючих пептидів можуть бути вбудовані на іншій ділянці в антитілі до B7RP1, наприклад, на N-кінці важкого ланцюга імуноглобуліну або легкого ланцюга імуноглобуліну, або в петельній області в CH2- або CH3-ділянці. Антитіло IgG може являти собою антитіло ссавців, як, наприклад, антитіло людини або миші. Антитіло до B7RP1 може являти собою людське або гуманізоване антитіло IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4. У таких біспецифічних злитих білках, що містять антитіло IgG до B7RP1, біспецифічний білок може містити важкий ланцюг, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:17 або SEQ ID NO:18, та легкий ланцюг імуноглобуліну, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:19. Передбачені варіанти, що містять важкий ланцюг, який має амінокислотну послідовність, що містить не більш ніж 30, 25, 20, 15, 10, 5 або 3 вставки, делеції або заміщення однієї амінокислоти у порівнянні із SEQ ID NO: 17 або 18. Аналогічним чином передбачені варіанти, що містять легкий ланцюг імуноглобуліну, який має амінокислотну послідовність, що містить не більше 20, 15, 10, 8, 7, 5 або 3 вставок, делецій або заміщень однієї амінокислоти у порівнянні із SEQ ID NO: 19. Такі біспецифічні білки можуть являти собою тетрамери, що містять два поліпептиди, які мають амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17 або 18 або її варіант, та два легкі ланцюги, які мають амінокислотну послідовність SEQ ID NO:19 або її варіант.

60

BAFF-зв'язуюча ділянка біспецифічного злитого білка, який описаний вище, може мати амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 або SEQ ID NO:3. Такі BAFF-зв'язуючі

пептиди описані в патенті США 7737111, відповідні фрагменти якого включені в даний документ за допомогою посилання. У деяких варіантах реалізації винаходу в біспецифічному білці можуть бути присутні одна, дві, три, чотири, п'ять, шість, сім, вісім, дев'ять, десять, одинадцять, дванадцять, тринадцять, чотирнадцять, п'ятнадцять або шістнадцять копій такого BAFF-зв'язуючого пептиду. BAFF-зв'язуючий пептид може бути приєднаний до карбоксильного кінця антитіла до B7RP1, наприклад, через лінкер. Наприклад, за карбоксильним кінцем антитіла IgG до B7RP1 може знаходитися лінкер, який має, наприклад, амінокислотну послідовність Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:4). Приклади інших підходящих лінкерів серед багатьох інших включають Gly-Gly, Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO:37), Gly-Gly-Gly-Pro (SEQ ID NO:38), Gly-Gly-Gly-Gln (SEQ ID NO:39) та Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:40). За цим лінкером може знаходитися BAFF-зв'язуючий пептид. За BAFF-зв'язуючим пептидом може знаходитися інший лінкер, який має, наприклад, амінокислотну послідовність SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7 або SEQ ID NO:24. Також може бути використаний інший лінкер. За цим лінкером може знаходитися інший BAFF-зв'язуючий пептид, який має, наприклад, амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1.

У біспецифічних злитих білках, описаних безпосередньо вище, або в біспецифічних гетеротетрамерних антитілах IgG, описаних вище, VL-ділянка може містити CDR1, CDR2 та CDR3, які мають амінокислотні послідовності SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 та SEQ ID NO:10, відповідно. CDR1, CDR2 та CDR3 VH-ділянки можуть містити амінокислотні послідовності SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12 та SEQ ID NO:13, відповідно. У деяких варіантах реалізації винаходу VL-ділянка антитіла IgG може містити амінокислотну послідовність SEQ ID NO:14 або її варіант, і VH-ділянка може містити амінокислотну послідовність SEQ ID NO:15 або її варіант. Такі варіанти послідовностей можуть містити не більше 10 делецій, вставок і заміщень однієї амінокислоти на 100 амінокислот у порівнянні з еталонною послідовністю.

Білки, що містять лінкер

У цьому винаході запропоновані лінкери, що мають амінокислотні послідовності SEQ ID NO:5, 6 або 7, які надають білку, який їх містить, задовільні фізичні властивості. Як показано в прикладі 1 нижче, застосування двох конкретних лінкерів, тобто лінкерів, що мають амінокислотні послідовності SEQ ID NO:6 та SEQ ID NO:7, позитивно впливає на властивості, такі як експресія, стабільність та в'язкість біспецифічної молекули. Отже, цілий ряд білків, що містять ці лінкери, можуть мати задовільні властивості у порівнянні з подібними білками, що містять інші лінкери.

Застосування біспецифічних білків у терапевтичних цілях

Описані в цьому документі біспецифічні білки, що зв'язуються з BAFF та B7RP1, можуть бути використані в якості терапевтичних засобів для лікування при цілому ряді показань, особливо станів, викликаних аутоантитілами, та/або станів, опосередкованих як Т-клітинами, так і В-клітинами. Такі стани включають, наприклад, СЧВ, вовчаковий нефрит, ANCA-позитивний васкуліт, ревматоїдний артрит (РА), дерматоміозит, поліміозит, захворювання шлунково-кишкового тракту, такі як хвороба Крона, виразковий коліт та целиакія, захворювання шкіри, такі як пухирчатка, пемфігоїд та підгострий шкірний червоний вовчак (ПШЧВ), захворювання нервової системи, такі як розсіяний склероз та хронічна запальна демієлінізуюча полінейропатія (ХЗДП), нервово-м'язові захворювання, такі як міастенія гравіс, захворювання, що вражають нирки, такі як синдром Гудпасчера, гломерулонефрит, гематологічні захворювання, такі як автоімунна гемолітична анемія (АІГА), ідіопатична тромбоцитопенічна пурпура (ІТП) та автоімунна нейтропенія, захворювання печінки, такі як хронічний активний гепатит, первинний біліарний цироз печінки, синдром Шегрена, системний склероз, та захворювання ендокринної системи, такі як тиреоїдит Хашимото, хвороба Грейвса, хвороба Аддісона та множинна ендокринна неоплазія (МЕН) (що зазвичай включають види цукрового діабету, гіпотиреоз, хворобу Аддісона та гонадну дисфункцію). Пацієнтові, що страждає від кожного із цих захворювань, з лікувальною метою можна вводити терапевтично ефективну кількість описаного в цьому документі біспецифічного білка.

В одному варіанті реалізації винаходу біспецифічний білок, який може інгібувати BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин та B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин, може бути використаний для лікування пацієнта, що страждає від СЧВ. СЧВ являє собою автоімунне захворювання невідомої етіології, що відрізняється аутореактивністю на ядерні аутоантигени. Воно характеризується такими різними клінічними проявами, що виникає питання, чи дійсно це одне захворювання, чи це група споріднених станів. Kotzin (1996) Systemic lupus erythematosus. Cell 85: 303-306; Rahman and Isenberg (2008), Systemic lupus erythematosus. N Engl J Med. 358: 929-939. Симптоми можуть включати наступні: системні симптоми, такі як дискомфорт, стомлюваність, гарячка, відсутність апетиту та втрата маси тіла; різноманітні шкірні симптоми,

що включають гострий, тимчасовий висип на обличчі у дорослих, бульозне захворювання та хронічний спотворюючий висип на голові та шиї; артрит; м'язовий біль та/або слабкість; серцево-судинні симптоми, такі як потовщення мітрального клапана серця, вегетації, регургітація, стеноз, перикардит та ішемічна хвороба серця, деякі з яких можуть завершуватися інсультом, емболічним інфарктом, серцевою недостатністю, інфекційним ендокардитом або недостатністю клапанів; нефрит, який є основною причиною смертності при СЧВ; неврологічні симптоми, що включають когнітивну дисфункцію, депресію, психоз, кому, епілептичні напади, мігрень та інші синдроми, що викликають головний біль, асептичний менінгіт, хорею, інсульт та нейропатію черепних нервів; гематологічні симптоми, що включають лейкопенію, тромбоцитопенію, серозит, анемію, порушення згортаності крові, спленомегалію та лімфаденопатію; і різні порушення шлунково-кишкового тракту. Id; Vratsanos et al., "Systemic Lupus Erythematosus, " Chapter 39 в Samter's Immunological Diseases, 6th Edition, Austen et al., eds., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2001. Тяжкість симптомів широко варіює, як і перебіг захворювання. СЧВ може призводити до летального кінця.

Пацієнта, хворого на СЧВ, можна лікувати за допомогою біспецифічного білка, який інгібує BAFF та B7RP1, до, після та разом з лікуванням за допомогою існуючої терапії для СЧВ. Такі існуючі препарати для лікування СЧВ включають кортикостероїди, такі як преднізон, преднізолон та метилпреднізолон, протималярійні засоби, такі як гідроксихлорохін, квінакрин та хлорохін, ретиноева кислота, аспірин та інші нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), циклофосфамід, дегідроепіандростерон, мофетила мікофенолят, азатіоприн, хлорамбуцил, метотрексат, такролімус, дапсон, талідомід, лефлуномід, циклоспорин, бєлімуаб, антитіла до CD20, такі як ритуксимаб, та злиті білки, такі як абатацепт.

Активність захворювання в пацієнтів, хворих на СЧВ, можна розрахувати за допомогою індексу активності системного червоного вовчача (SLEDAI), який являє собою показник активності захворювання, що враховує наступні симптоми, які зважуються відповідно до тяжкості захворювання: епілептичні напади, психоз, органічний мозковий синдром, порушення зору, розлад черепно-мозкових нервів, головний біль, викликаний системним червоним вовчаком, васкуліт, артрит, міозит, циліндри в сечі, гематурія, протеїнурія, піурія, новий висип, алопеція, виразки слизової оболонки, плеврит, перикардит, низький вміст комплементу, підвищене зв'язування ДНК, гарячка, тромбоцитопенія та лейкопенія. Bombardier et al. (1992), Arthr. & Rheum. 35(6): 630-640, відповідні фрагменти якого включені в даний документ за допомогою посилання. Види лікування, описані в цьому документі, можуть бути придатними до використання для ослаблення або усунення симптомів СЧВ, які визначають за SLEDAI. Способи лікування, описані в цьому документі, можуть сприяти поліпшенню показника SLEDAI для пацієнта у порівнянні із вихідним значенням, характерним для того ж пацієнта до початку лікування за допомогою біспецифічного білка, який описаний у цьому документі.

Іншим способом оцінки активності захворювання при СЧВ є індекс Британської групи по вивченню системного червоного вовчача (BILAG), який являє собою систему оцінки активності захворювання для пацієнтів, хворих на СЧВ, виходячи з намірів лікаря для проведення лікування. Stoll et al. (1996), Ann. Rheum Dis. 55: 756-760; Hay et al. (1993), Q. J. Med. 86: 447-458. Фрагменти цих літературних джерел, у яких описаний BILAG, включені в даний документ за допомогою посилання. Показник BILAG визначають шляхом присвоєння окремих числових або буквених балів для визначення активності захворювання в кожній з восьми систем органів, включаючи загальні (як, наприклад, гарячка та стомлюваність), шкірно-слизові (як, наприклад, висип та алопеція, окрім багатьох інших симптомів), неврологічні (як, наприклад, епілептичні напади, мігренозні головні болі та психоз, окрім багатьох інших симптомів), скелетно-м'язові (як, наприклад, артрит), кардіореспіраторні (як, наприклад, серцева недостатність та ослаблена функція легенів), васкуліт та тромбоз, ниркові (як, наприклад, нефрит) та гематологічні прояви. Id. Види лікування, описані в цьому документі, можуть бути придатними до використання для ослаблення або усунення симптомів СЧВ, які визначають за індексом BILAG, або для зменшення показника BILAG, одержаного для пацієнта, у порівнянні із вихідним значенням, характерним для того ж пацієнта до початку лікування за допомогою біспецифічного білка, який описаний у цьому документі.

Біспецифічний білок, який описаний у цьому документі, який інгібує BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин людини та B7RP1 -опосередковану проліферацію Т-клітин людини, також може бути використаний для лікування ревматоїдного артриту (РА). РА являє собою хронічне захворювання із системними проявами, а також проявами, асоційованими конкретно із суглобами. Прояви звичайно включають синовіт, що призводить до болю в суглобах та припухлості суглобів, і різні відхилення лабораторних показників від норми, як, наприклад, підвищення вище норми рівнів ревматоїдного фактора, антитіл до цитрулін-модифікованого

білка (антитіла до ССР) та С-реактивного білка (CRP) і підвищення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ). Прояви, що рідше зустрічаються, включають різні несуглобні прояви, при яких уражені, наприклад, сухожилля, зв'язки, кровоносні судини, серце та легені. Активність захворювання часто можна визначити за багатьма показниками. Див., наприклад, Anderson et al. (2012), *Arthritis care & Res.* 64 (5): 640-647, у фрагментах яких обговорюються такі показники, включені в даний документ за допомогою посилання. Елементами таких оцінювальних індексів є число хворобливих суглобів, число припухлих суглобів, функціональна оцінка та різні дані лабораторних досліджень, як, наприклад, CRP, ШОЕ і т.д.

У деяких варіантах реалізації винаходу пацієнта, що страждає від РА, можна лікувати за допомогою біспецифічного білка, який інгібує BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин та B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин, до, після та разом з лікуванням за допомогою існуючих лікарських речовин, які застосовуються у даний час для лікування РА. Терапевтичні засоби, які застосовуються у даний час для лікування ревматоїдного артриту (РА), включають у числі інших нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) (такі як аспірин, інгібітори циклооксигенази-2 (COX-2)), хворобо-модифікуючі антиревматичні препарати (ХМАРП, такі як метотрексат, лефлуномід та сульфасалазин), протималарійні засоби (такі як гідроксихлорохін), циклофосфамід, D-пеніциламін, азатіоприн, солі золота, інгібітори фактора некрозу пухлини (такі як етанерцепт, інфліксимаб, адаліумаб, голіумаб та цертолізумаб пегол), інгібітори CD20, такі як ритуксимаб, антагоністи ІЛ-1, такі як анакінра, інгібітори ІЛ-6, такі як тоцилізумаб, інгібітори Янус-кіназ (JAK, такі як тофацитиніб), абатацепт та кортикостероїди.

Терапевтично ефективна кількість біспецифічного білка, який описаний у цьому документі, який інгібує BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин людини та B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин людини, також може бути використана для лікування запального захворювання кишечника, як, наприклад, хвороби Крона або виразкового коліту. Хвороба Крона характеризується хронічним запаленням будь-якої ділянки травного тракту від ротової порожнини до анального отвору, хоча у більшості пацієнтів таке запалення обмежене ілеоцекальною ділянкою, ділянкою тонкої кишки та ділянкою ободової та прямої кишок. Звичайно запалення - це переривчастий процес. Загальні симптоми включають біль у ділянці живота, відсутність апетиту та втрату маси тіла, гарячку, здуття живота та/або хворобливість у правій нижній частині черевної порожнини, запор, блювоту та перианальний дискомфорт і виділення. Інші можливі прояви включають у числі інших периферійний артрит, затримку росту, епісклерит, афтозний стоматит, вузлувату еритему, гангренозну пріодермію, камені в нирках, порушення процесів розведення сечі та підлучування сечі, малабсорбцію та камені в жовчному міхурі. Див., наприклад, Strober et al., *Medical Immunology*, 10th Edition, Section III, Ch. 35 (2001); Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 17th Edition, Section 3, Ch. 31 (1999). Макрофаги, виділені із крові пацієнтів із хворобою Крона, продукують підвищену кількість ІЛ-12, ІФН- γ , ФНП- α та інших прозапальних цитокінів.

Незважаючи на те, що виразковий коліт іноді складно відрізнити від хвороби Крона, він відрізняється від хвороби Крона в декількох відношеннях. По-перше, він, у цілому, обмежується товстою кишкою, тоді як хвороба Крона може вражати весь травний тракт. По-друге, виразковий коліт, в основному, характеризується тільки запаленням поверхневих шарів кишечника, на відміну від хвороби Крона, при якій запальний процес може вражати всі шари стінки кишечника або іншу ділянку травного тракту. І нарешті, виразковий коліт звичайно характеризується суцільною ділянкою запалення, а не переривчастими вогнищами запалення, характерними для хвороби Крона. Подібно хвороби Крона виразковий коліт головним чином зустрічається в міській місцевості. Крім того, зрозуміло, що в розвитку виразкового коліту деяку роль відіграють генетичні фактори, оскільки існує сімейне накопичення випадків захворювання. Наявність аутоантитіл спостерігається частіше в пацієнтів з виразковим колітом, ніж в пацієнтів із хворобою Крона. Аутоантитіла часто спрямовані проти компонентів епітеліальних клітин ободової кишки. Найпоширенішими є антитіла до цитоплазми нейтрофілів, що володіють специфічністю до каталази, α -енолази та лактоферину. У деяких випадках такі антитіла перехресно реагують із мікроорганізмами ободової кишки.

У клінічних випробуваннях активність хвороби Крона часто оцінюють із використанням індексу активності хвороби Крона (CDAI). CDAI являє собою показник активності захворювання, що враховує вісім факторів, включаючи (1) частоту рідкого або кашкоподібного стільця в день, (2) оцінку пацієнтом частоти приступів болю в животі в день, (3) оцінку пацієнтом загального самопочуття, (4) повідомлення пацієнта про інші прояви, включаючи артрит, ірит, увеїт, вузлувату еритему, гангренозну пріодермію, афтозний стоматит, анальну тріщину, свищ або абсцес, інший свищ або гарячку, (5) повідомлення пацієнта про приймання ломотила або інших опіатів від поносу, (6) абдомінальну масу, (7) гематокритне число та (8) масу тіла. Див,

наприклад, Best et al. (1976), Gastroenterol. 70: 439-444, відповідні фрагменти якого включені в даний документ за допомогою посилання.

Симптоми виразкового коліту різноманітні. До них можуть відноситися блідість, нудота, блювота, діарея, біль у животі, головний біль, запаморочення, біль в очах, погіршення зору, звуження або розширення зіниць, слезовиділення, слиновиділення, пітливість та сплутаність свідомості. Токсичний мегаколон, потенційний стан, небезпечний для життя, при якому товста кишка розширена на величину близько 6 сантиметрів та може втратити м'язовий тонус та/або також може трапитися перфорація. Інші симптоми, які можуть супроводжувати виразковий коліт, включають периферійний артрит, анкілозуючий спондиліт, сакроілеїт, передній увеїт, вузлувату еритему, гангренозну пріодермію, епісклерит, автоімунний гепатит, первинний склерозуючий холангіт, цироз та сповільнений ріст і розвиток у дітей.

У деяких варіантах реалізації винаходу пацієнта, що страждає від запального захворювання кишечника (ЗЗК), як, наприклад, хвороба Крона або виразковий коліт, можна лікувати за допомогою біспецифічного білка, який зв'язується з BAFF та B7RP1, до, після та разом з лікуванням за допомогою існуючої терапії для ЗЗК. Існуючі терапевтичні засоби для ЗЗК включають, наприклад, сульфасалазин, 5-аміносаліцилову кислоту та її похідні (такі як олсалазин, балсалазид та месаламін), антитіла до ФНП (включаючи інфліксимаб, адалімумаб, голімумаб, цертолізумаб пегол), кортикостероїди для перорального або парентерального застосування (включаючи преднізон, метилпреднізон, будесонід або гідрокортизон), адренкортикотропний гормон, антибіотики (включаючи метронідазол, ципрофлоксацин або рифаксимін), азатіоприн, 6-меркаптопурин, метотрексат, циклоспорин, такролімус та талідомід.

Нуклеїнові кислоти, що кодують біспецифічні білки

У цьому винаході запропоновані нуклеїнові кислоти, що кодують біспецифічний білок, який може інгібувати B7RP1 -опосередковану проліферацію Т-клітин та BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин. Наприклад, SEQ ID NO:52 кодує VL-ділянку, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:14, та SEQ ID NO:53 кодує VH-ділянку, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:15. Аналогічним чином SEQ ID NO:55 та 56 кодують амінокислотні послідовності SEQ ID NO:17 та 18, відповідно, які являють собою поліпептиди, що містять важкий ланцюг антитіла до B7RP1, злитий із двома BAFF-зв'язуючими пептидами. SEQ ID NO:57 кодує легкий ланцюг антитіла до B7RP1, яке може входити до складу гетеротетрамерного біспецифічного антитіла IgG або біспецифічного злитого білка, які описані вище. Передбачена будь-яка амінокислотна послідовність, яка кодує будь-яку амінокислотну послідовність, запропоновану в цьому документі. Аналогічним чином варіанти нуклеотидних послідовностей, що включають мовчазні мутації, у порівнянні із послідовностями, розкритими в цьому документі, або, що кодують варіанти амінокислотних послідовностей, описані вище, також включені в об'єм даного винаходу. Більш конкретно, передбачені нуклеотидні послідовності, що кодують амінокислотні послідовності, які відрізняються не більше ніж на 10 вставок, делецій або заміщень однієї амінокислоти на 100 амінокислот від амінокислотних послідовностей, розкритих у цьому документі.

Послідовності нуклеїнової кислоти, що кодують біспецифічні білки, розкриті в цьому документі, зможе визначити фахівець у даній галузі техніки на підставі амінокислотних послідовностей, запропонованих у цьому документі, та знань, доступних у даній галузі техніки. Крім більш традиційних способів одержання сегментів клонованої ДНК, яка кодує конкретну амінокислотну послідовність, компанії, такі як DNA 2.0 (Менло-Парк, Каліфорнія, США) та BlueHeron (Ботелл, Вашингтон, США) у числі інших у цей час регулярно виробляють одержані шляхом хімічного синтезу ДНК, що мають розмір гена, будь-якої бажаної послідовності під замовлення, отже, оптимізуючи процес виробництва таких ДНК. Частоту використання кодону можна підібрати таким чином, щоб оптимізувати експресію в переважній системі.

Способи одержання біспецифічних білків, які зв'язуються з BAFF та B7RP1

Нуклеїнові кислоти, що кодують біспецифічні білки, описані в цьому документі, можуть бути вбудовані у вектори, що підходять для клітини-хазяїна, у якій нуклеїнова кислота буде експресована. Ці нуклеїнові кислоти можуть бути введені в клітини-хазяї за допомогою будь-яких способів, добре відомих у даній галузі техніки. Клітини-хазяї, які можна використовувати, включають бактерії, включаючи *Escherichia coli*, дріжджі, включаючи *Saccharomyces cerevisia* або *Pichia pastoris*, клітини комах, включаючи клітини *Spodoptera frugiperda*, рослинні клітини та клітини ссавців, включаючи, серед іншого, клітини яєчника китайського хом'ячка (CHO), клітини нирок новонародженого хом'ячка (ВНК), клітини нирок мавп, HeLa клітини, клітини гепатоклітинної карциноми людини та клітини 293. Ці клітини-хазяї можна культивувати в умовах, які забезпечують експресію введених нуклеїнових кислот, та біспецифічний білок можна виділити з культурального супернатанта або клітинної маси.

Як правило, вибір методу, який використовують для введення нуклеїнових кислот у клітини-хазяї, може залежати від клітини-хазяїна, у яку необхідно ввести нуклеїнові кислоти. Способи введення нуклеїнових кислот у клітини бактерій добре відомі в даній галузі техніки. Наприклад, широко використовується електропорація або трансформація за допомогою обробки хлоридом кальцію. Способи введення нуклеїнових кислот у клітини дріжджів також добре відомі в даній галузі техніки та включають, наприклад, способи трансформації з використанням ацетату літію та поліетиленгліколю. Способи введення гетерологічних полінуклеотидів у клітини ссавців добре відомі в даній галузі техніки та включають, у тому числі, декстран-опосередковану трансфекцію, осадження фосфатом кальцію, полібрен-опосередковану трансфекцію, злиття протопластів, електропорацію, інкапсуляцію полінуклеотиду (полінуклеотидів) у ліпосоми та безпосередню мікроін'єкцію ДНК у ядра.

Експресуючі вектори, що використовуються в будь-яких клітинах-хазяїнах, можуть містити послідовності, необхідні для реплікації ДНК, селекції клітин-хазяїв, що містять вектор, та експресії екзогенних нуклеотидних послідовностей. Такі послідовності зазвичай можуть включати одну або декілька із наступних нуклеотидних послідовностей: промотор, одну або декілька послідовностей енхансеру, точку початку реплікації, послідовність для термінації транскрипції, повну послідовність інтрону, що містить донорні та акцепторні сайти сплайсингу, послідовність, яка кодує лідерну послідовність для секреції поліпептидів, сайт зв'язування рибосом, послідовність для поліаденілування, полілінкерну ділянку для вбудовування нуклеїнової кислоти, яка кодує поліпептид, який необхідно експресувати, та селектуючий маркерний елемент. У даній галузі техніки відомі та комерційно доступні численні експресуючі вектори для експресії в різних клітинах-хазяїнах.

Фармацевтичні композиції, дозування та способи введення

У цьому винаході запропоновані фармацевтичні композиції, що містять біспецифічні білки, описані в цьому документі. Такі композиції можуть містити терапевтично ефективну кількість біспецифічного білка з одним або декількома додатковими компонентами, такими як фізіологічно прийнятний носій, допоміжна речовина або розріджувач. Приклади наповнювачів, які використовуються, також включають консерванти, буферні розчини та інші регулятори рівня pH, регулятори тоничності, поверхнево-активні речовини, антиоксиданти, а також хелатуючі агенти. Багато з таких додаткових компонентів описані, наприклад, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, (A.R. Gennaro, ed.), 1990, Mack Publishing Company, відповідні фрагменти якого включені в даний документ за допомогою посилання.

Дозування описаних у цьому документі біспецифічних білків можна підібрати з метою досягнення бажаного ефекту. У багатьох випадках буде потрібно введення повторної дози через хронічну природу захворювання, з призову якого проводиться лікування. Наприклад, описаний у цьому документі біспецифічний білок можна вводити два рази в тиждень, один раз у тиждень, один раз у два, три, чотири, п'ять, шість, сім, вісім, дев'ять або десять тижнів або один раз кожні два, три, чотири, п'ять або шість місяців. Кількість біспецифічного білка для введення щодоби може складати від близько 0,0036 мг до близько 700 мг. В альтернативному варіанті реалізації винаходу дозування можна підібрати відповідно до встановленої площі шкіри пацієнта, та кількість кожного дозування може складати від близько 0,002 мг/м² до близько 350 мг/м². В іншому альтернативному варіанті реалізації винаходу дозування можна підібрати відповідно до маси тіла пацієнта, та кількість кожного дозування може складати від 0,000051 мг/кг до близько 10,0 мг/кг.

Біспецифічні білки або фармацевтичні композиції, що містять ці молекули, можна вводити будь-яким підходящим способом. Терапевтичні засоби, які містять білок, звичайно вводять парентеральним шляхом, наприклад, за допомогою ін'єкції, оскільки пероральний прийом за відсутності деяких спеціальних лікарських форм або умов буде призводити до гідролізу білка в кислому середовищі шлунка. Можливими шляхами введення є підшкірна, внутрішньом'язова, внутрішньовенна, внутрішньоартеріальна, внутрішньоосередкова та внутрішньочеревна болюсні ін'єкції. Біспецифічні білки також можуть вводитися за допомогою інфузії, наприклад, внутрішньовенної або підшкірної інфузії. Також можна використовувати місцеве застосування у випадку захворювань, що вражають шкіру. В альтернативному варіанті реалізації винаходу біспецифічні білки можуть прийматися через контакт зі слизовою оболонкою, наприклад, шляхом інтраназального, сублінгвального або ректального застосування або застосування в якості засобу для інгаляції. В альтернативному варіанті реалізації винаходу певні відповідні фармацевтичні композиції, що містять біспецифічний білок, можуть прийматися перорально.

Після загального опису винаходу, наведеного вище, приклади, що знаходяться нижче, наведені з метою ілюстрації та не призначені для обмеження винаходу.

ПРИКЛАДИ

Приклад 1. Конструювання та випробування біспецифічної молекули BAFF/B7RP1 для терапевтичного використання при лікуванні людей

Метою цієї серії експериментів було виявлення біспецифічної молекули, яка (1) інгібує BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин та B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин, (2) є високоактивною в біологічних аналізах та (3) має задовільні біофізичні властивості. На фіг. 1 проілюстрований цілий ряд схематичних зображень для злиття пептиду, який зв'язує BAFF людини з антитілом IgG до B7RP1 людини (антитіло до huB7RP1). Послідовність BAFF-зв'язуючого пептиду наведена в SEQ ID NO:1, та послідовності важкого та легкого ланцюгів антитіла до huB7RP1 наведені в SEQ ID NO:25 та SEQ ID NO:19, відповідно.

Для визначення того, яка структура має найкращі біофізичні властивості зі збереженням біологічної активності, були одержані та досліджені біспецифічні молекули, проілюстровані на фіг. 1. В одній конструкції дві тандемні копії BAFF-зв'язуючого пептиду із проміжним лінкером ("лінкер 1K", який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:24) були злиті з N-кінцем або важкого ланцюга імуноглобуліну (P71617), або легкого ланцюга (P71618) антитіла до huB7RP1. Див. фіг. 1. Амінокислотна послідовність важкого ланцюга P71617 наведена в SEQ ID NO:26, і амінокислотна послідовність легкого ланцюга P71617 є такою ж, як і амінокислотна послідовність легкого ланцюга антитіла до huB7RP1 (SEQ ID NO:19). Амінокислотна послідовність легкого ланцюга P71618 наведена в SEQ ID NO:27, і амінокислотна послідовність важкого ланцюга P71618 є такою ж, як і амінокислотна послідовність легкого ланцюга антитіла до huB7RP1 (SEQ ID NO:25). Дві тандемні копії BAFF-зв'язуючого пептиду також були злиті з C-кінцем важкого ланцюга антитіла до huB7RP1 (який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:25) з використанням або зазначеного вище лінкера 1K (який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:24; P71619), або лінкера 5X(G4S) (SEQ ID NO:71) між двома BAFF-зв'язуючими пептидами (P71620). Амінокислотні послідовності важких ланцюгів цих двох злитих конструкцій наведені в SEQ ID NO:16 (P71619) та SEQ ID NO:28 (P71620). У конструкції P71621 дві тандемні копії BAFF-зв'язуючого пептиду із проміжним лінкером 1K були вбудовані в CH3-домен антитіла між залишками 358 та 359 амінокислотної послідовності SEQ ID NO:25 (амінокислотна послідовність важкого ланцюга антитіла до huB7RP1). Послідовність важкого ланцюга конструкції P71621 наведена в SEQ ID NO:29. У конструкції P71622 BAFF-зв'язуючий пептид був вбудований в CH3-домен важкого ланцюга антитіла до huB7RP1 (між залишками 358 та 359 SEQ ID NO:25, і друга копія BAFF-зв'язуючого пептиду була злита з C-кінцем важкого ланцюга. Амінокислотна послідовність важкого ланцюга P71622 наведена в SEQ ID NO:30. У конструкції P71623 один BAFF-зв'язуючий пептид був вбудований в CH2-ділянку (між залишками 268 та 269 SEQ ID NO:25), і другий BAFF-зв'язуючий пептид був вбудований в CH3-ділянку (між залишками 358 та 359 SEQ ID NO:25). SEQ ID NO:31 являє собою амінокислотну послідовність важкого ланцюга P71623. Усі конструкції P71619-P71623 мають легкий ланцюг антитіла до huB7RP1 (SEQ ID NO:19).

У конструкціях P74293 та P74294 був модифікований лінкер між двома тандемними копіями BAFF-зв'язуючого пептиду в конструкції P71619. Амінокислотні послідовності важких ланцюгів P74293 та P74294 наведені в SEQ ID NO:17 і SEQ ID NO: 18, відповідно. Легкі ланцюги цих конструкцій також мають амінокислотну послідовність SEQ ID NO:19.

Нуклеїнові кислоти, що кодують описані вище конструкції, були одержані в такий спосіб. Нуклеїнові кислоти, що кодують N-кінцеву ділянку продуктів N-кінцевого злиття BAFF-пептиду (P71617 і P71618), включаючи дві копії BAFF-зв'язуючого пептиду на додаток до варіабельного домену важкого або легкого ланцюга імуноглобуліну, були одержані синтетично. Вони були лігвані через підходящі сайти ендонуклеаз рестрикції з нуклеїновими кислотами, що кодують константний домен важкого або легкого ланцюгів, у відповідні вектори. Усі нуклеїнові кислоти, що кодують продукти C-кінцевого злиття константного домену важкого ланцюга (P71619 і P71620), і вставки Fc-петлі (P71621 та P71623), і вставку Fc-петлі/продукт C-кінцевого злиття (P71622), були одержані синтетично та лігвані у вектор, що містить варіабельний домен важкого ланцюга, через підходящі сайти ендонуклеаз рестрикції.

Описані вище різні біспецифічні конструкції були експресовані та у тимчасово трансфікованих клітинах 293, і в стабільно трансфікованих клітинах CHO. Злиті білки були виділені та досліджені на біологічну активність. Не спостерігалось ніяких відмінностей в експресії білків, одержаних у цих двох різних видах клітин-хазяїв.

Інгібуюча дія біспецифічних молекул на BAFF була досліджено в аналізі BAFF-опосередкованої проліферації людських В-клітин первинної культури. Коротко, В-клітини людини були виділені з моноклеарних клітин периферичної крові (МКПК) з використанням набору II для негативної селекції В-клітин людини від Miltenyi Biotec (Оберн, Каліфорнія). Близько 10^5 виділених В-клітин культивували в 96-лункових мікротитраційних планшетах у

мінімальному живильному середовищі (MEM), доповненому 10 % термоінактивованої фетальної бичачої сироватки (ФБС) у присутності 50 нг/мл BAFF-білка людини, 2 мкг/мл P(ab')₂-фрагменту козячого антитіла до IgM людини (Jackson ImmunoResearch) та різних концентрацій одного з описаних вище біспецифічних білків при 37 °C в 5 % CO₂ протягом 48 годин. Пептидне антитіло до BAFF було використано в якості позитивного контролю ("αBAFF", який являє собою гомодимер, що містить два поліпептидні ланцюги, причому кожний ланцюг містить два BAFF-зв'язуючих пептида, злитих з Fc-поліпептидом). Молекула αBAFF докладно описана в патенті США 7259137, та амінокислотна послідовність одного пол і пептидного ланцюга цього гомодимера наведена в SEQ ID NO:32. Фрагменти патенту США 7259137, у якому описаний αBAFF, включені в даний документ за допомогою посилання. Швидкість проліферації визначали за включенням радіоактивного ³H-тимідину протягом останніх 18 годин інкубації. Результати проілюстровані на фіг. 2A та 2B.

Дані, наведені на фіг. 2A, свідчать про те, що дві конструкції, злиті на C-кінці (P71619 та P71620), були зіставними один з одним у відношенні інгібування BAFF-опосередкованої проліферації В-клітин та більш ефективними, ніж всі інші злиті конструкції, досліджені в цьому експерименті. Надалі конструкцію P71620 не використовували, оскільки вона мала тенденцію до агрегації, а ця властивість є дуже небажаною для терапевтичного білка. Дані, наведені на фіг. 2B, свідчать про те, що P71619 зіставна із двома описаними вище незначною мірою модифікованими варіантами цієї конструкції (P74293 та P74294) і з позитивним контролем (αBAFF) у відношенні інгібування BAFF-опосередкованої проліферації В-клітин. Отже, серед досліджених біспецифічних конструкцій P71619, P71620, P74293 та P74294 мали зіставну активність у цьому аналізі BAFF-опосередкованої проліферації В-клітин та більш високу активність, ніж всі інші досліджені конструкції.

Інгібуючу дію P71619, P74293 та P74294 на B7RP1 було досліджено з використанням аналізу B7RP1-Fc-опосередкованої проліферації Т-клітин людини. Первинну культуру Т-клітин людини виділяли із МКПК здорових донорів з використанням набору для виділення Т-клітин (Pan T cell isolation kit) від Miltenyi Biotec (Оберн, Каліфорнія) та стимулювали з використанням зв'язаного з підкладкою антитіла до CD3 (1 мкг/мл) і злитого білка B7RP1-F (3 мкг/мл) у присутності різних концентрацій описаних вище біспецифічних білків або антитіла IgG2 до B7RP1 людини (названого у цьому документі "αB7RP1"). Через 48 годин до клітин додавали ³H-тимідин, і включення ³H-тимідину визначали через 24 години. Усі біспецифічні антитіла, які були досліджені, мали подібні IC₅₀, які були подібні з IC₅₀ для αB7RP1 (фіг. 3). Отже, ці дані вказують на те, що кон'югація BAFF-зв'язуючих пептидів з антитілом huB7RP1 незначною мірою впливає на здатність даного антитіла інгібувати активність B7RP1 або не має ніякого впливу.

Афінність зв'язування гетеродимерних біспецифічних антитіл P74293 та P74294 з BAFF та B7RP1 визначали з використанням аналізу кінетичного виключення (Kinexa[®]; Sapidyne Instruments, Бойсе, Айдахо). Обидва антитіла характеризуються високою афінністю зв'язування з BAFF людини (маючи K_d близько 30 pM) та з B7RP1 людини (маючи K_d близько 40 pM). Див. нижче таблицю 2. На додаток до цього, обидві ці біспецифічні молекули характеризуються подібною афінністю зв'язування з BAFF яванського макака у порівнянні із BAFF людини та з B7RP1 яванського макака у порівнянні із B7RP1 людини. Таблиця 2.

Таблиця 2. Афінітність зв'язування та активність у відношенні клітин P74293 та P74294

	P74293	P74294
K _d (пМ) для зв'язування з BAFF людини	29	37
K _d (пМ) для зв'язування з BAFF яванського макака	22,3	17,4
IC ₅₀ (нМ) для інгібування BAFF-опосередкованої проліферації В-клітин яванського макака	0,86	0,96
IC ₅₀ (нМ) для інгібування BAFF-опосередкованої проліферації В-клітин яванського макака	1,6	1,8
K _d (пМ) для зв'язування з B7RP1 людини	38	41
K _d (пМ) для зв'язування з B7RP1 яванського макака	49,4	45,2
IC ₅₀ (нМ) для інгібування B7RP1-опосередкованої проліферації Т-клітин людини	1,36	0,98
IC ₅₀ (нМ) для інгібування B7RP1-опосередкованої проліферації Т-клітин яванського макака	0,29	Н/В*

*Н/В означає «не визначали».

Для подальшої оцінки активності P74293 у системі *in vitro* з використанням клітин людини оцінювали продукцію цитокінів клітинами мигдалин людини, активованими ентеротоксином *B. Staphylococcus* (SEB), у присутності різних досліджуваних молекул. Коротко, клітини мигдалин людини виділяли із тканини та стимулювали SEB (1 мкг/мл) у присутності однієї з наступних молекул: (1) αB7RP1, (2) P74293, (3) CTLA4-Ig (позитивний контроль) або (4) IgG людини (негативний контроль). Через 72 години культивування збирали клітинний супернатант та оцінювали рівні цитокінів з використанням наборів від Meso Scale Discovery згідно з інструкцією виробника. Результати проілюстровані на фіг. 4.

Усі три молекули αB7RP1, P74293 та CTLA4-Ig, стовпці 1, 2 та 3, відповідно, на всіх панелях фіг. 4, інгібували вивільнення IL-17, IL-10, IL-4 та IFNγ. Вивільнення IL-2 інгібував тільки CTLA4-Ig. Отже, αB7RP1 та біспецифічний P74293 до BAFF/B7RP1 мали зіставний та специфічний вплив на секрецію цитокінів SEB-активованими клітинами мигдалин людини.

Були досліджені додаткові властивості трьох гетеродимерних біспецифічних білків, тобто P71619, P74293 та P74294. Титри білків, виділених з культур клітин-хазяїв, продукуючих ці білки, свідчили про те, що рівні продукції P74293 та P74294 були приблизно у два рази вище рівнів продукції P71619. P74293 та P74294 також були більш стабільними, ніж P71619 після зберігання протягом двох тижнів при 40 °C, що було оцінено за допомогою ексклюзійної хроматографії (SEC). P74293 утворював прозорий розчин на початковому етапі зберігання та через 4 тижні зберігання, тоді як розчини, що містили P74394, були мутними на всіх етапах зберігання. Розчини P74293 та P74294 були менш в'язкими, ніж розчини P71619. Отже, P74293 та P74294 характеризувалися більш високими рівнями експресії, ніж P71619, а також більшою стабільністю та меншою в'язкістю в діапазоні досліджених концентрацій, ніж P71619. Найбільш очевидна різниця між цими молекулами полягала в наявності лінкера між двома BAFF-зв'язуючими пептидами. Ці дані вказують на те, що лінкери, присутні в P74293 та P74294 (SEQ ID NO:6 і 7), можуть поліпшувати властивості цих молекул.

Фармакокінетичні властивості описаних біспецифічних молекул були вивчені на мишах. Самцям мишей лінії CD-1 внутрішньовенно (IV) вводили однократну дозу (5 мг/кг) біспецифічних злитих білків P71617, P71619, P71621, P71622, P74293 або P74294. Зразки сироватки крові збирали перед введенням та через 0,5, 2, 8, 24, 48, 72, 96, 168, 240, 336, 408, 504 години після введення. Концентрацію біспецифічної молекули в сироватці крові визначали за допомогою двох методів ІФА, один з них дозволяє виявити Fc-ділянку, а інший - як Fc-ділянку, так і ділянку BAFF-зв'язуючого пептиду. Для визначення Fc-ділянки в якості уловлюючого реагенту було використано біотинільоване антитіло до Fc-ділянки, а в якості детектуючого реагенту було використано мічене ALEXA FLUOR® 647 антитіло до Fc-ділянки. Для виявлення ділянки BAFF-зв'язуючого пептиду та Fc-ділянки біспецифічної молекули в якості уловлюючого реагенту був використаний біотинільований BAFF-білок, а в якості детектуючого реагенту було використано мічене ALEXA FLUOR® 647 антитіло до Fc-ділянки. Біспецифічні білки із двома тандемними копіями BAFF-зв'язуючих пептидів, злитих з Текінцем (P71617), С-кінцем (P71619, P74293 і P74294) або CH3-доменом (P71621) важкого ланцюга, характеризуються дуже схожими

фармакокінетичними профілями (РК) у мишей. Фіг. 5. Біспецифічний білок з однією копією BAFF-зв'язуючого пептиду, вбудованою в СН3-домен, та іншою копією, злиною з С-кінцем важкого ланцюга (P71622), мав менш виражений вплив у порівнянні із іншими біспецифічними білками. Фіг. 5. На додаток до цього, за допомогою двох різних ІФА-аналізів були встановлені

подібні концентрації біспецифічних білків у сироватці крові, що вказує на те, що розщеплення біспецифічних білків *in vivo* було незначним.

Також були оцінені фармакокінетичні та фармакодинамічні параметри гетеродимерних біспецифічних антитіл Р74293 та Р74294 у дослідженні однократного введення на яванських маках. Інтактним самцям яванського макака (n=4) внутрішньовенно або підшкірно вводили

Таблиця 3. Фармакокінетичні параметри в яванського макака

	P74293		P74294	Антитіло до huB7RP1	
	10 мг/кг, IV	10 мг/кг, SC	10 мг/кг, SC	10 мг/кг, IV	10 мг/кг, SC
Максимальна концентрація лікарської речовини (C_{max}; мкг/мл)	323	90	74	264	112
Час, коли досягається C_{max} (T_{max}; години)		45	51		72
Площа під кривою (AUC_{0-inf}; мкг*година/мл)	33800	20300	22000	26100	23800
Середній час утримання (MRT_{0-inf}; година)	136	132	148	138	144
Загальний кліренс (ЗК; мл/г/кг)	0,303	0,491	0,484	0,383	0,427
Обсяг розподілу в рівноважному стані (V_{ss}; мл/кг)	42,5			52,1	

Дані, наведені в таблиці 3, свідчать про те, що фармакокінетичні параметри Р74293 та Р75294 зіставні один з одним та з параметрами антитіла до huB7RP1.

Приклад 2. Конструювання та випробування мишачої біспецифічної гомологічної молекули

Для проведення доклінічних досліджень на мишах були сконструйовані мишачі біспецифічні гомологічні молекули, які можуть зв'язуватися з мишачим B7RP1 та мишачим BAFF (надалі "мишача гомологічна молекула"). Антитіло до huB7RP1, використане для конструювання біспецифічних конструкцій, описаних у прикладі 1, не зв'язується з B7RP1 миші, тоді як BAFF-зв'язуючий пептид, використаний у цих конструкціях, все-таки зв'язується з BAFF як людини, так і миші. Дані не показані. Мишача гомологічна молекула включає антагоністичне антитіло IgG до B7RP1 миші (назване в цьому документі "антитілом до mB7RP1", яке являє собою химерну молекулу, що складається з константних доменів імуноглобуліну миші та варіабельних доменів імуноглобуліну щура до B7RP1 миші. Застосування антитіла до mB7RP1 описане в наступному джерелі Hu et al. (2009), J. Immunol. 182: 1421, у якому воно позначено 1B7-V2. Мишача гомологічна молекула має дві копії BAFF-зв'язуючого пептиду (SEQ ID NO:1), злиті через короткий лінкер (довжиною п'ять амінокислот) з С-кінцем важкого ланцюга імуноглобуліну до mB7RP1. Дві копії BAFF-зв'язуючого пептиду розділені іншим лінкером, довжина якого становить 23 амінокислоти. Нуклеїнові кислоти, які кодують важкий ланцюг мишачої гомологічної молекули, були одержані з використанням ПЛР, з праймерами, які перекриваються, для з'єднання нуклеїнових кислот, які кодують BAFF-зв'язуючу ділянку αBAFF, з 5'-кінцем нуклеїнових кислот, які кодують важкий ланцюг 1B7-V2, тобто антитіло до mB7RP1.

Інгібування BAFF з використанням мишачої гомологічної молекули оцінювали в аналізі BAFF-опосередкованої проліферації В-клітин. В-лімфоцити миші виділяли із селезінки мишей

лінії C57BL/6 шляхом негативної селекції з використанням мікрогранул MACS CD43 (1y-48) згідно з інструкціями виробника (Miltenyi Biotec, Оберн, Каліфорнія) або із МКПК із використанням набору для виділення В-клітин (Miltenyi Biotec, Оберн, Каліфорнія). Виділені В-клітини стимулювали з використанням 0,1 мкг/мл антитіла до IgM та 200 нг/мл BAFF у присутності різних концентрацій гомологічної молекули або α BAFF. Проліферацію В-клітин визначали за включенням ^3H -тимідину на 4-ту добу. IC_{50} мишачої гомологічної молекули та α BAFF становила 0,59 нМ та 0,73 нМ, відповідно. Див. фіг. 6А. Отже, мишача гомологічна молекула ефективно інгібувала BAFF з активністю, зівставною з активністю α BAFF.

Для визначення ступеня інгібування мишачою гомологічною молекулою зв'язування B7RP1 з рецептором клітини селезінки миші спочатку активували для підвищення експресії рецептора B7RP1 шляхом інкубації їх у лунках мікротитраційного планшета, покритих антитілом до CD3 (5 мкг/мл) протягом 24 годин. Активовані клітини селезінки промивали фосфатно-сольовим буферним розчином (PBS) та потім інкубували з 5 мкг/мл біотинільованого mB7RP1:Fc у присутності різних концентрацій мишачої гомологічної молекули при 4 °C протягом 30 хвилин. Клітини промивали і потім фарбували кон'югованим з алофікоціаніном (APC) антитілом до CD3 миші та стрептавідином-фікоеритрином (стрептавідин-ФЕ) ще протягом 20 хвилин. Зв'язування B7RP1-Fc з Т-клітинами аналізували за допомогою проточної цитометрії. IC_{50} мишачої гомологічної молекули та антитіла до mB7RP1 становила 4,01 пМ та 2,8 пМ, відповідно. Див. фіг. 6В. Таким чином, у цьому аналізі активність мишачої гомологічної молекули була схожа з активністю антитіла до mB7RP1. Отже, мишача гомологічна молекула інгібує як BAFF, так і B7RP1.

Фармакодинамічні ефекти мишачої гомологічної молекули *in vivo* оцінювали на мишах, імунізованих еритроцитами барана (ЕБ). Коротко, проводили первинну імунізацію мишей лінії BALB/c (у віці 8 тижнів) на 0-у добу та бустер-імунізацію на 28-у добу з використанням 2×10^8 ЕБ в 0,2 мл PBS шляхом внутрішньочеревної ін'єкції. Миші ($n=5$ для кожної молекули) одержували два рази в тиждень з 0-ї доби по 33-ю добу одну з наступних молекул у концентрації 5 мг/кг: мишача гомологічна молекула; α BAFF; антитіло до mB7RP1 або IgG1 миші. Миші, які одержували ЕБ, але не одержували інших речовин, служили в якості позитивних контролів. Мишей умертвляли на 34-у добу та виділяли селезінки.

Для вимірювання співвідношення В-клітин та Т-клітин пам'яті в селезінці клітини селезінки виділяли шляхом подрібнення тканини селезінки через клітинні фільтри. Клітини селезінки попередньо інкубували з неміченим антитілом до CD 16/32 для блокування неспецифічного зв'язування антитіл з Fc-гамма рецепторами (Fc γ R). Частку В-клітин визначали за забарвленням міченим ФЕ антитілом до B220 (який експресований на В-клітинах). Частку Т-клітин пам'яті (CD44^{hi}CD62L^{lo}CD4 Т-клітин) визначали за забарвленням кон'югованим з FITC антитілом до CD44, кон'югованим з ФЕ антитілом до CD62L, кон'югованим з APC антитілом до CD4 та кон'югованим з PerCP антитілом до CD3. Усі антитіла для забарвлення були придбані в BD Bioscience (Сан-Дієго, Каліфорнія). Для визначення кількості В- та Т-клітин проводили проточну цитометрію з використанням проточного цитометра FACSCALIBUR™ (BD Bioscience, Сан-Хосе, Каліфорнія), і дані аналізували з використанням програмного забезпечення FLOWJO® (Treestar Inc., Ашленд, Орегон) для аналізу даних проточної цитометрії. Результати проілюстровані на фіг. 7.

Для вимірювання рівнів антитіл до ЕБ у сироватці крові мікротитраційні планшети, покриті 10 мкг/мл розчинного антигену ЕБ, інкубували протягом двох годин при кімнатній температурі з розведеною сироваткою крові мишей, на яких чинився вплив. Рівень Ig, що зв'язався, специфічного по відношенню до ЕБ, визначали в сироватці крові з використанням кон'югованих з пероксидазою хрину (HRP) поліклональних козячих антитіл до IgG та IgM миші (Southern Biotech, Бірмінгем, Алабама). Реакцію із субстратом проводили з використанням субстрату пероксидази SUREBLUE™ TMB (KPL, Гейтсберґ, Меріленд) згідно з інструкцією виробника, і оптичну щільність вимірювали з використанням планшетного спектрофотометра Spectrum Max (Molecular Devices). У якості позитивного контролю в кожний планшет додавали зразки після серійного розведення суміші сироваток мишей, імунізованих ЕБ, за відсутності будь-якого впливу, і будували стандартну криву на основі даних оптичної щільності для цих лунок. Рівні антитіл до ЕБ інших зразків представлені на фіг. 7 у вигляді відсоткового вмісту від позитивного контролю.

Відсотковий вміст клітин селезінки, які являли собою В-клітини, був зниженим у мишей, що одержували мишачу гомологічну молекулу, у порівнянні із відсотковим вмістом, що спостерігався у мишей, що одержували IgG1 миші. Фіг. 7 (верхня панель). Аналогічне зменшення спостерігалось у мишей, що одержували BAFF або α BAFF та антитіло до mB7RP1, але не у мишей, що одержували тільки антитіло до mB7RP1. Фіг. 7 (верхня панель). Що стосується Т-

клітин пам'яті, у мишей, що одержували мишачу гомологічну молекулу, антитіло до mB7RP1 або антитіло до mB7RP1 та α BAFF, кількісне співвідношення Т-клітин пам'яті у порівнянні із кількісним співвідношенням, що спостерігалось у мишей, які одержували mIgG1, було зниженим. Фіг. 7 (середня панель). На відміну від цього дія α BAFF не впливала на популяцію Т-клітин пам'яті в селезінці у порівнянні із впливом, що спостерігався для mIgG. Фіг. 7 (середня панель). Мишача гомологічна молекула також забезпечувала значне зменшення рівня антитіл до ЕБ у сироватці крові аналогічно зменшенню, що спостерігалось під впливом антитіла до mB7RP1 або антитіла до mB7RP1 та α BAFF, або у мишей, яким не вводили ЕБ. Фіг. 7 (нижня панель). У мишей, що одержували тільки α BAFF, спостерігалось помірне зниження рівня антитіл до ЕБ у порівнянні із рівнем, що спостерігався під впливом mIgG1. Фіг. 7 (нижня панель). Ці дані свідчать про те, що мишача гомологічна молекула чинить подвійну інгібуючу дію на В-клітинний та Т-клітинний компартменти у мишей *in vivo*.

Вплив мишачої гомологічної молекули на активність захворювання оцінювали на моделі вовчака на мишах F₁ лінії NZBAV з використанням різних об'ємів доз для кожної досліджуваної молекули. Самкам мишей F₁ лінії NZB/W (у віці 4,5 місяця, n=20) два рази на тиждень шляхом внутрішньочеревної ін'єкції на протязі 18 тижнів вводили речовини з використанням кожного з наступних режимів дозування: 5 або 15 мг/кг мишачої гомологічної молекули (MW \approx 160 кДа); 4,68 або 14 мг/кг антитіла до mB7RP1 (MW \approx 150 кДа); 1,88 або 5,6 мг/кг α BAFF (MW \approx 64 кДа); комбінація α BAFF (1,88 або 5,6 мг/кг) та антитіла до mB7RP1 (4,68 або 14 мг/кг); IgG1 миші (15 мг/кг; ізотипічний контроль); або фосфатно-буферний розчин (PBS) (негативний контроль). Протеїнурію визначали в сечі з використанням ALBUSTIX[®] (Bayer, Елхарт, Індіана) кожні два тижня, починаючи з віку 5 місяців. Частоту випадків виникнення протеїнурії виражали у вигляді відсоткового співвідношення мишей з білком в сечі в концентрації щонайменше 300 мг/дл з використанням двох послідовних вимірювань. Рівень антитіл до дЛДНК виміряли за допомогою ІФА. Бальну оцінку захворювань нирок проводили шляхом дослідження зразків тканини нирок на наявність восьми різних видів ушкоджень, а саме розростання капілярів судинних клубочків, гіперплазія мезангіальних клітин, накопичення мезангіального матрикса, гіперплазія парієтальних епітеліальних клітин, інтерстиціальний нефрит, дилатація каналців/білкові циліндри та атрофія каналців/інтерстиціальний фіброз. Кожному типу пошкодження був присвоєний показник тяжкості захворювання від 0 до 5 із максимально можливим показником 32. Показники для кожної групи мишей усереднювали. Проводили моніторинг виживаності.

У віці 12 місяців у жодної з мишей, що одержували мишачу гомологічну молекулу в будь-якому дозуванні, не розвивалася протеїнурія. На відміну від цього, у 100 % мишей, що одержували IgG1 або PBS у обох досліджених дозуваннях, була відзначена протеїнурія. Фіг. 8А та 9В. У близько 60 % та 35 % мишей, що одержували антитіло до mB7RP1 та α BAFF у меншому дозуванні, відповідно, і в близько 50 % та 25 % мишей, що одержували антитіло до mB7RP1 та α BAFF, відповідно, у більшому дозуванні розвивалася протеїнурія. Фіг. 8А та 9В. На додаток до цього, дія мишачої гомологічної молекули в обох дозуваннях призводила до зменшення рівнів IgG до дЛДНК у сироватці крові у порівнянні із негативним контролем під впливом mIgG1. Фіг. 8В і 9А. Під впливом біспецифічної молекули виживаність тварин значно підвищувалася у порівнянні із контрольними групами тварин, що одержували mIgG та PBS. Дані не показані. Однак, ніякої явної різниці у виживаності не спостерігалось після впливу біспецифічної молекули у порівнянні із дією однієї молекули на момент завершення експерименту.

Нирки всіх мишей, що одержували досліджувані речовини, включаючи мишей, що вмерли перед завершенням дослідження, виділяли для гістологічної бальної оцінки тяжкості захворювання нирок. Групи мишей, що одержували α BAFF, комбінацію α BAFF та антитіла до mB7RP1 або мишачу гомологічну молекулу, характеризувалися більш низькими показниками тяжкості захворювання нирок у порівнянні із контрольною групою, що одержувала mIgG1. Фіг. 10. У груп, що одержували мишачу біспецифічну гомологічну молекулу або комбінацію, була відзначена тенденція до зменшення патологічних змін нирок у порівнянні із групами, що одержували одну речовину, причому даний результат явно корелює з описаними вище результатами за протеїнурією. Можна зіставити фіг. 10 із фіг. 8А та 9В. У такий спосіб подвійне інгібування BAFF та B7RP1 під впливом мишачої гомологічної молекули або комбінації α BAFF та антитіла до mB7RP1 було більш ефективним, ніж інгібування під впливом тільки BAFF (α BAFF) або тільки B7RP1 (антитіло до mB7RP1) у відношенні запобігання початку та розвитку захворювання в моделі вовчака на мишах F₁ лінії NZB/W.

Для визначення того, чи може інгібування як BAFF, так і B7RP1 ефективно пригнічувати симптоми колаген-індукованого артриту в мишей, проводили наступний експеримент. Самців мишей DBA імунізували 100 мкг бичачого колагену II типу, емульгованого в 2 × повному

ад'юванті Фрейнда (CFA), на 0-у добу, повторно імунізували бичачим колагеном II типу в неповному ад'юванті Фрейнда (IFA) на 21-у добу. Миші одержували одну з досліджуваних речовин два рази на тиждень на протязі дослідження тривалістю 41 тиждень, починаючи з 0-ї доби. Через кожний інтервал часу для кожної групи оцінювали кількість мишей у відсотках у кожній групі, в яких проявлялися симптоми артриту, і середній показник ступені тяжкості артриту. Показники ступеня тяжкості артриту визначали шляхом обстеження кожної кінцівки та шляхом визначення бала від 0 до 3 для кожної кінцівки, причому більш високі бали були використані для більш припухлих та/або більш запалених кінцівок. Таким чином, максимальний загальний показник ступеня тяжкості артриту був рівний 12. Вважалося, що миша мала артрит, якщо у неї був показник ступеня тяжкості артриту щонайменше 1 для будь-якої кінцівки.

Результати проілюстровано на фіг. 11. Ці дані свідчать про те, що ефективність комбінації α BAFF та антитіла до mB7RP1 (зафарбовані кружечки, з'єднані жирними лініями) була більш високою у відношенні пригнічення симптомів артриту, ніж α BAFF (незафарбовані кружечки, з'єднані жирними лініями) або тільки антитіла до mB7RP1 (зафарбовані кружечки, з'єднані пунктирними лініями). Групи негативного контролю, що одержували mIgG (зафарбовані квадрати, з'єднані жирними лініями) або PBS (зафарбовані квадрати, з'єднані пунктирними лініями), характеризувалися найвищою частотою випадків виникнення артриту та найбільш високими показниками ступеня тяжкості артриту. Ці результати вказують на те, що інгібування як BAFF, так і B7RP1, на відміну від інгібування тільки одного із цих шляхів, могло б бути ефективним методом лікування аутоімунного та/або запального захворювання артритної природи, як, наприклад, ревматоїдний артрит (РА).

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> HSU, HAILING

ZHANG, MING

KANNAN, GUNASEKARAN

JACOBSEN, FREDERICK W.

TSUJI, WAYNE

<120> БІЛКИ, СПЕЦИФІЧНІ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО BAFF ТА B7RP1, ТА ЇХНЕ ЗАСТОСУВАННЯ

<130> A-1887-WO-PCT

<140> --буде призначено--

<141> 2014-03-12

<150> 61/942776

<151> 2014-02-21

<150> 61/780260

<151> 2013-03-13

<160> 72

<170> PatentIn версії 3.5

<210> 1

<211> 18

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної п. слідовності: синтетичний
пептид"

<400> 1

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp

1 5 10 15

Pro Leu

<210> 2

<211> 18

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 2

Phe His Asp Cys Lys Trp Asp Leu Leu Thr Lys Gln Trp Val Cys His

1 5 10 15

Gly Leu

<210> 3

<211> 12

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<220>

<221> ВАРІАНТ

<222> (3)..(3)

<223> /replace="Tyr" або "Phe"

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Будь-яка амінокислота

<220>

<221> ВАРІАНТ

<222> (7)..(7)

<223> /replace="Ile"

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Arg" або "His"

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> (10)..(10)

<223> /replace="Arg" або "His", або "Ala", або "Val", або "Leu", або

"Ile", або "Pro", або "Phe", або "Trp", або "Met"

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(12)

<223> /note="Варіанти залишків, наведені в послідовності, не мають

ніяких переваг по відношенню до залишків, наведених в примітках для

варіантів положень"

<400> 3

Cys Lys Trp Asp Xaa Leu Thr Lys Gln Lys Val Cys

1 5 10

<210> 4

<211> 4

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 4

Gly Gly Gly Gly

1

<210> 5

<211> 23

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> (12)..(12)

<223> /replace="Val"

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(23)

<223> /note="Варіанти залишків, наведені в послідовності, не мають
ніяких переваг по відношенню до залишків, наведених в примітках для
варіантів положень"

<400> 5

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Ser Ala Ser Ser Gly

1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Leu

20

<210> 6

<211> 23

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 6

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Val Ala Ser Ser Gly

1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Leu

20

<210> 7

<211> 23

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 7

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Ser Ala Ser Ser Gly

1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr His Leu

20

<210> 8

<211> 11

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 10

Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 11

<211> 5

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 11

Ser Tyr Trp Met Ser

1 5

<210> 12

<211> 17

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 12

Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 13

<211> 12

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 13

Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe

1 5 10

<210> 14

<211> 108

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 14

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 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 15

<211> 121

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 15

Glu 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 Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 16

<211> 509

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 16

Glu 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 Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly

100

105

110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115

120

125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130

135

140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145

150

155

160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165

170

175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180

185

190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195

200

205

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

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

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

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
 290 295 300

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

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly

435 440 445

Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val

450 455 460

Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Gly

465 470 475 480

Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser Leu Pro Gly Cys Lys

485 490 495

Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu

500 505

<210> 17

<211> 511

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 17

Glu 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 Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys

210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly

435 440 445

Gly Gly Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln

450 455 460

Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly

465 470 475 480

Ser Val Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Leu Leu Pro Gly

485 490 495

Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu

500 505 510

<210> 18

<211> 511

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 18

Glu 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 Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys

210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly

435 440 445

Gly Gly Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln

450 455 460

Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly

465 470 475 480

Ser Ser Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Leu Leu Pro Gly

485 490 495

Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu

500 505 510

<210> 19

<211> 214

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 19

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 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln 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

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

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr 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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 20

<211> 9

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<220>

<221> MOD_RES

<222> (2)..(9)

<223> Будь-яка амінокислота

<400> 20

Cys Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа

1 5

<210> 21

<211> 5

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 21

Leu Glu Trp Ile Gly

1 5

<210> 22

<211> 4

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний

пептид"

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Будь-яка амінокислота

<400> 22

Trp Gly Xaa Gly

1

<210> 23

<211> 4

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний

пептид"

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3)..(3)

<223> Будь-яка амінокислота

<400> 23

Phe Gly Хаа Gly

1

<210> 24

<211> 23

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 24

Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ala Ser Ser Gly

1 5 10 15

Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser

20

<210> 25

<211> 447

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 25

Glu 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 Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys

210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 26

<211> 508

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 26

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp

1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ala Ser

20 25 30

Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp

35 40 45

Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Glu Val Gln

50 55 60

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg

65 70 75 80

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Ser

85 90 95

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile

100 105 110

Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg

115 120 125

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met

130 135 140

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu

145 150 155 160

Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly Gln Gly Thr

165 170 175

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

180 185 190

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly

195 200 205

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

210 215 220

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

225 230 235 240

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

245 250 255

Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser

260 265 270

Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys

275 280 285

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe

290 295 300

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

305 310 315 320

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe

325 330 335

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

340 345 350

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr

355 360 365

Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

370 375 380

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr

385 390 395 400

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg

405 410 415

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly

420 425 430

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

435 440 445

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser

450 455 460

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

465 470 475 480

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

485 490 495

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

500 505

<210> 27

<211> 275

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 27

Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp

1 5 10 15

Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ala Ser

20 25 30

Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Ser Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp

35 40 45

Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Asp Ile Gln

50 55 60

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val

65 70 75 80

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala Trp

85 90 95

Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ala Ala

100 105 110

Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

115 120 125

Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe

130 135 140

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly

145 150 155 160

Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val

165 170 175

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser

180 185 190

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln

195 200 205

Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val

210 215 220

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu

225 230 235 240

Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu

245 250 255

Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg

260 265 270

Gly Glu Cys

275

<210> 28

<211> 511

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 28

Glu 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 Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys

210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly

435 440 445

Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val

450 455 460

Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

465 470 475 480

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Pro Gly

485 490 495

Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu

500 505 510

<210> 29

<211> 510

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 29

Glu 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 Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys

210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu

355 360 365

Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr

370 375 380

Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ala Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly

385 390 395 400

Ser Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys

405 410 415

Asp Pro Leu Gly Gly Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

420 425 430

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

435 440 445

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp

450 455 460

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

465 470 475 480

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

485 490 495

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

500 505 510

<210> 30

<211> 490

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 30

Glu 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 Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys

210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu

355 360 365

Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Thr Lys Asn Gln

370 375 380

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

385 390 395 400

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

405 410 415

Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu

420 425 430

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

435 440 445

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

450 455 460

Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu

465 470 475 480

Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu

485 490

<210> 31

<211> 491

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 31

Glu 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 Ser Tyr

20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys

210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Gly Gly Leu Pro

260 265 270

Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu

275 280 285

Gly Gly Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

290 295 300

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser

305 310 315 320

Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu

325 330 335

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala

340 345 350

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

355 360 365

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Gly Gly Leu Pro

370 375 380

Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu

385 390 395 400

Gly Gly Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

405 410 415

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

420 425 430

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

435 440 445

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

450 455 460

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

465 470 475 480

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

485 490

<210> 32

<211> 293

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
поліпептид"

<400> 32

Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys

1 5 10 15

Asp Pro Leu Gly Ser Gly Ser Ala Thr Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ala

20 25 30

Ser Ser Gly Ser Gly Ser Ala Thr His Met Leu Pro Gly Cys Lys Trp

35 40 45

Asp Leu Leu Ile Lys Gln Trp Val Cys Asp Pro Leu Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Val Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

65 70 75 80

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

85 90 95

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

100 105 110

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

115 120 125

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser

130 135 140

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

145 150 155 160

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala

165 170 175

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

180 185 190

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln

195 200 205

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

210 215 220

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

225 230 235 240

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu

245 250 255

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

260 265 270

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

275 280 285

Leu Ser Pro Gly Lys

290

<210> 33

<211> 232

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 33

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 34

<211> 228

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 34

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

35 40 45

His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Met Glu

50 55 60

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr

65 70 75 80

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn

85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro

100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

165 170 175

Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

210 215 220

Ser Pro Gly Lys

225

<210> 35

<211> 279

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 35

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys

1 5 10 15

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu

35 40 45

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala Pro

50 55 60

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

65 70 75 80

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

85 90 95

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr Val Asp

100 105 110

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

115 120 125

Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

130 135 140

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

145 150 155 160

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg

165 170 175

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

180 185 190

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

195 200 205

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asn

210 215 220

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

225 230 235 240

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile Phe Ser

245 250 255

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser

260 265 270

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

275

<210> 36

<211> 229

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 36

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe

1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr

20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val

50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser

65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser

100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala

145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu

180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys

225

<210> 37

<211> 4

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 37

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 38

<211> 4

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний

пептид"

<400> 38

Gly Gly Gly Pro

1

<210> 39

<211> 4

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний

пептид"

<400> 39

Gly Gly Gly Gln

1

<210> 40

<211> 5

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 40

Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 41

<211> 54

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<400> 41

ctgccgggtt gtaaatggga cctgctgatc aaacagtggg ttgtgaccc gctg 54

<210> 42

<211> 12

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<400> 42

ggtggtggtg gt 12

<210> 43

<211> 69

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<220>

<221> модифікована_основа

<222> (36)..(36)

<223> а, с, t, g, невідома або інша

<400> 43

ggatccggtt ctgctactgg tggttccggc tccdbngcaa gctctggttc aggcagtgcg 60

actcatctg 69

<210> 44

<211> 69

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<400> 44

ggatccgggt ctgctactgg tggttccggc tccgcgcaa gctctggtc aggcagtgcg 60

actcatctg 69

<210> 45

<211> 69

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<400> 45

ggatccgggt ctgctactgg tggttccggc tccgcgcaa gctctggtc aggcagtgcg 60

actcatctg

69

<210> 46

<211> 33

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<400> 46

cgggcgagtc agggtagtag caactggta gcc

33

<210> 47

<211> 21

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<400> 47

gctgcatcca gtttgcaaag t

21

<210> 48

<211> 27

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<400> 48

caacagtatg atagttaccc tcggacg 27

<210> 49

<211> 15

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<400> 49

agttattgga tgagt 15

<210> 50

<211> 51

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<400> 50

tacataaagc aagatggaaa tgagaaatac tatgtggact ctgtgaaggg c 51

<210> 51

<211> 36

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<400> 51

gaagggatac ttggttcgg ggacttacg acgttc 36

<210> 52

<211> 324

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
полінуклеотид"

<400> 52

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggattagc aactggtag cctggatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaatgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tatgatagtt accctcggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

<210> 53

<211> 363

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний

полінуклеотид"

<400> 53

gaggtegagc tggaggagtc tggggaggc ttgtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtcag cttctggatt taccttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct 120

ccagggaag ggctggagt ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcatgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtc gagggaaggg 300

atactttgt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct 360

agt 363

<210> 54

<211> 1527

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний

полінуклеотид"

<400> 54

gagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttgtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag ctcttgatt taccttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct 120

ccagggaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggcgc attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctattgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg 300

atactttggt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct 360

agtgcctcca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420

gagagcacag cggccctggg ctgcctgttc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgtctt gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggta acggtgccct cctcaaattt cgggacgcag 600

acatacatat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag 660

cggaagtgtt gcgtcgagtg cccaccgtgt cccgtcctc cggtcgctgg cccatcagta 720

tttctctcc ctccaagcc aaaagataca ctcatgatct caagaacccc agaagtgact 780

tgtgtggtcg tggacgtgtc gcatgaggat ccggagggtgc agtttaactg gtatgtggat 840
 ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctcgacgttc 900
 aggggtgtca gcgtgttgac agtagtcac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa 960
 tgtaaggtct caaacaagg gctcccgga cccattgaga agacaatttc caaaaccaag 1020
 ggacagccca gggaacccca agtgatatcg ctgccccaa gccgggagga aatgacgaaa 1080
 aatcagggtca gcctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag 1140
 tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tataagacca caccaccgat gctcgactcc 1200
 gacggaagct tctttttgta ctgaaactg acggtggaca aatcgcgtg gcaacagggg 1260
 aatgtcttta gctgctcggc catgcacgag gccctccaca atcattacac tcagaaaagc 1320
 ttgtcgtct cgccgggtgg ggggtggagga ctgcccggtt gcaaatggga tctgttgatc 1380
 aaacagtggg tatcgacccc ttgggaagc ggctcggcga cgggtgggtc ggggtcgggt 1440
 gcgtccagcg gatcgggtc ggccactggg tccctccctg gatgcaagtg ggatcttctt 1500
 atcaagcaat gggtgtgcga tccctc 1527

<210> 55

<211> 1533

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
полінуклеотид"

<400> 55

gagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttgtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cttctggatt taccttagt agttattga tgagttgggt ccgccaggct 120

ccagggaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180

gtggactctg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctattgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acgctgtgt attactgtc gagggaaggg 300

atactttgt tcggggactt accgacgtc tggggccagg gaaccctgt caccgtctc 360

agtgctcca ccaagggcc atcggcttc cccctggcgc cctgtccag gagcacctcc 420

gagagcacag cggccctggg ctgcctggc aaggactact tcccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgctc gaccagcggc gtgcacacct tccagctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggt acggtgccct cctcaaattt cgggacgcag 600

ctgctgatca aacagtgggt ttgtgacccg ctg 1533

<210> 56

<211> 1533

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
полінуклеотид"

<400> 56

gagggtcagc tggaggagtc tgggggaggc ttgggtccagc ctgggggggc cctgagactc 60

tcctgtgcag cttctggatt taccttagt agttattgga tgagtgggt ccgccaggct 120

ccagggaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg 300

atactttggt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaacctggt caccgtctct 360

agtgctcca ccaaggcccc atcggctctc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420

gagagcacag cggccctggg ctgcctggc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggta acggtgcct cctcaaattt cgggacgcag 600

acatatcat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag 660

cggaaagtgt cgcgcgagt cccaccgtgt cccgctctc cggtcgctgg cccatcagta 720

tttcttcc ctccaagcc aaaagata ctcgatct caagaacccc agaagtgact 780

tgtgtggtc tggacgtgc gcatgaggat ccggagggtc agttaactg gtatgtggat 840

ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctgcacgttc 900

aggggtgtca gcgtgtgac agtagtcac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa 960

tgtaaggtct caaacaagg gctcccgca ccattgaga agacaatttc caaaaccaag 1020

ggacagccca gggaaccca agtgtatac ctgccccaa gccgggagga aatgacgaaa 1080

aatcaggta cctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag 1140

tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tataagacca caccaccgat gctcgactcc 1200

gacggaagct tcttttcta ctcgaaactg acggtggaca aatcgcgctg gcaacagggg 1260

aatgtcttta gctgctcgt catgcacgag gccctccaca atcattacac tcagaaaagc 1320

ttgtcgctct cgccgggtaa aggtgggtgt ggtggtctgc cgggttgtaa atgggacctg 1380

ctgatcaaac agtgggtttg tgaccgctg ggatccggtt ctgctactgg tggttccggc 1440

tcctcggcaa gctctgggtc aggcagtgcg actcatctgc tgccgggttg taaatgggac 1500

ctgctgatca aacagtgggt ttgtgacctg ctg 1533

<210> 57

<211> 642

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
полінуклеотид"

<400> 57

gacatccaga tgaccagtc tccatctca ctgtctcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca ggtattagc aactggtag cctggtatca gcagaaacca 120

gagaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacag tatgatagtt accctcggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 58

<211> 69

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
олігонуклеотид"

<400> 58

ggaagcggct cggcgacggg tgggtcgggg tcgggtgcgt ccagcggatc gggctcggcc 60

actgggtca

69

<210> 59

<211> 1341

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
полінуклеотид"

<400> 59

gaggtgcagc tggtaggtc tggggaggc ttgtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag ctctggatt taccttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct 120

ccagggaag ggctggagt ggtagcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180

gtggactctg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg 300

atactttggt tcggggactt accgacgtc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct 360

agtgctcca ccaagggcc atcgtcttc cccctggcg cctgctccag gaggacctcc 420

gagagcacag cggccctggg ctgcctggc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggta acggtgccct cctcaaattt cgggacgcag 600

acatatacat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag 660

cggaaagtgtt gcgtcgagtg cccaccgtgt cccgctcctc cggtcgctgg cccatcagta 720

tttctctcc ctccaagcc aaaagataca ctcatgatct caagaacccc agaagtgact 780

tgtgtggtcg tggacgtgc gcatgaggat ccggagggtc agtttaactg gtatgtggat 840

ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctcgacgttc 900

aggggtgtca gcgtgttgac agtagtcac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa 960

tgtaaggctt caaacaagg gctcccgca cccattgaga agacaatttc caaaaccaag 1020

ggacagccca gggaacccca agtgtatagc ctgccccaa gccgggagga aatgacgaaa 1080

aatcagggtca gcctcacgtg tctcgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag 1140

tgggagtcaa atggacagcc cgaaaacaac tataagacca caccaccgat gctcgactcc 1200

gacggaagct tctttttgta ctcgaaactg acggtggaca aatcgcgctg gcaacagggg 1260

aatgtcttta gctgctcggt catgcacgag gccctccaca atcattacac tcagaaaagc 1320

ttgtcgctct cgccgggtaa a 1341

<210> 60

<211> 1524

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
полінуклеотид"

<400> 60

cttcccgat gcaagtggga tctgtgatc aagcaatggg tctgcgacc tctcgggtca 60

gggtccgca ccggtggatc ggggtcggga gcgtcatcgg gcagcggag cgctacggga 120

tcacttcccg ggtgcaaatg ggacctctg atcaacaat gggatatga tccgctcgtt 180

ggcgaggatc agctgggtga gtctggggga ggcttggtcc agcctggggg gtcctgaga 240

ctctcctgtg cagcttctgg atttacctt agtagttatt ggatgagtg ggtccgccag 300

gtccagggga aagggtgga gtgggtggcc tacataaagc aagatggaaa tgagaaatac 360

tatgtggact ctgtgaaggc ccgattcacc atctccagag acaacgcaa gaactcattg 420

tatctgcaaa tgaacagcct gagagccgag gacacggctg tgtattactg tgcgagggaa 480

gggatacttt gggtcgggga cttaccgacg ttctggggcc agggaaccct ggtcaccgtc 540

tctagtcct ccaccaaggg cccatcggtc tttcccctgg cgcctgctc caggagcacc 600

tccgagagca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 660

gtgtcgtgga actcaggcgc tctgaccagc ggctgcaca cttcccagc tgtctacag 720

tcctcaggac tctactcct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcaa cttcggcacc 780

cagacctaca cctgcaactg agatcacaag cccagcaaca ccaaggaggga caagacagtt 840

gagcgcaaat gttgtgtga gtgcccaccg tgcccagcac cacctgtggc aggaccgtca 900

gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctatga tctccggac cctgaggtc 960

acgtgcgtgg tggaggacgt gagccacgaa gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg 1020

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg aggagcagtt caacagcacg 1080

ttccgtgtgg tcagcgtct caccgttgtg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac 1140

aagtgaagg tctccaaca aggctccca gccccatcg agaaaacat ctccaaaacc 1200

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc 1260

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggc aaaggcttct acccagcga catgccgtg 1320

gagtgaggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacacctcc catgctggac 1380

tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1440

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctgc acaaccacta cacgcagaag 1500

agcctctccc tgtctccggg taaa 1524

<210> 61

<211> 825

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
полінуклеотид"

<400> 61

ctccctgggt gcaaatggga cctgttgatt aagcagtggg tctgcgaccc tctcggatcg 60

ggaagcgcaa ctgggggttc aggtcaggg gctagctccg gatcggggtc ggccacaggg 120

tcgtccccg gatgtaagtg ggaccttttg attaaacagt gggtgtgca tccacttgga 180

ggtgatatcc agatgacaca gtcaccctcg tcgttgagcg ccagcgtggg agatagagtg 240

acgatcacct gtcgagccag ccaggcatc tccaactggc ttgcgtggta ccaacaaaag 300

cccgagaagg caccgaaatc gctgatctac gcggcgtcgt cactgcagtc ggggtgtaccg 360

tcgcggttta gcgggtccgg gtccggaacg gacttcacgc tcacgatttc ctattgcag 420

ccggaagatt ttgcgactta ttactgtcag caatatgact catatccccg cacattcggg 480

cagggaacca aggtcgagat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 540

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tctgcctgct gaataacttc 600

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 660

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccttg 720

acgtgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 780

ggcctgagct cggccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 825

<210> 62

<211> 1533

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
полінуклеотид"

<400> 62

gaggtgcagc tggaggagtc tggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cttctggatt taccttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct 120

ccagggaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg 300

atactttgt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaacctggt caccgtctct 360

agtgcctcca ccaagggccc atcggcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420

gagagcacag cggccctggg ctgcctggc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggt acggtgcct cctcaaattt cgggacgcag 600

acatacat gcaatgtgga tcataagcct tccaacacga aggtggacaa gactgtggag 660

cggaagtgtt gcgtcgagt cccaccgtgt cccgctcctc cggtcgtgg cccatcagta 720

tttctctcc ctccaagcc aaaagataca ctcatgatct caagaacccc agaagtgact 780

tgtgtggtcg tggacgtgtc gcatgaggat ccggagggtgc agtttaactg gtatgtggat 840

ggcgtagaag tccacaacgc caagaccaag cctagagagg aacaattcaa ctcgacgttc 900

agggtggtca gcgtgttgac agtagtcac caggactggc ttaatgggaa ggaatacaaa 960

tgtaaggtct caaacaagg gctcccgga cccattgaga agacaatttc caaaaccaag 1020

ggacagccca gggaaccca agtgtatacg ctgccccaa gccgggagga aatgacgaaa 1080

aatcaggta gcctcacgtg tctgtaaag ggattttacc cgtcggacat cgcggtggag 1140

tgggagtcaa atggacagcc cgaataaac taaaaacga cccacatat gctcgattcg 1200

gacggcagct tcttttga ttcaagtgg acagtggaca aatcgcgatg gcagcagggc 1260

aacgtcttct catgttcagt aatgcatgag gcccttcaca accactacac gcagaagtcc 1320

ctctcattgt cgcgggtgg gggaggagga ctgcccgggt gcaagtggga cctcttgatc 1380

aaacagtggg tatgcgaccc ttgggaggg ggtgggtcag gaggggagg ttccggtgga 1440

ggtggttccg ggggagggcg atcaggaggt ggaggatcgt tgcccggctg taagtgggat 1500

ctgtgatca agcagtgggt ctgtgatcct ttg 1533

<210> 63

<211> 1530

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний

полінуклеотид"

<400> 63

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttgtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag ctctggatt taccttagt agttattgga tgagtgggt ccgccaggct 120

ccagggaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcattgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acgctgtgt attactgtgc gagggaaggg 300

atactttgt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctgtt caccgtctct 360

agtgcccca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420

gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tccagctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcaactt cggcaccag 600

acctacact gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag 660

cgcaaatgtt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc 720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 780

tgctgtgtgg tggacgtgag ccacgaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc 900

cgtgtgttca gcgtctcac cgttgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagg cctccagcc cccatcgaga aaacatctc caaaacaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccacctt cgcgggagga aatgggagga 1080

ctccccgggt gcaagtggga tcttctatc aaacagtggg tatgcgacct gctggggtca 1140

gggtcagcga caggtggatc gggtagcggc gcatcgagcg gatcagggtc cgcgacgggc 1200

tcacttccc gatgcaaag ggacctcttg attaagcagt ggggtgtga cccgttgggt 1260

ggaacgaaga atcaggtctc gttgacgtgt ctggtgaagg ggttttatcc ctcgatatc 1320

gctgtcgagt gggagtcgaa tggacagccc gaaaacaact acaagaccac cccgcctatg 1380

ctggactccg atggttcctt cttttgtac tcgaaactga ctgtggataa gagcagggtg 1440

cagcaaggga atgtattctc gtgttcgtc atgcacgaag ccctccataa ccactataca 1500

caaaaatcgc ttacacttag cccggaaaa 1530

<210> 64

<211> 1470

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
полінуклеотид"

<400> 64

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttgtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtcagc ctctggatt taccttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct 120

ccagggaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctattgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg 300

atactttgt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct 360

agtcctcca ccaagggccc atcggcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420

gagagcacag cggccctggg ctgctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcaactt cggcaccag 600

acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag 660

cgcaaatgtt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc 720

ttcctctcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccgacccc tgaggtcacg 780

tgctgtgtgg tggacgtgag ccacgaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggac 840

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc 900

cgtgtgttca cgtcctcac cgttgtcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 960

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaaacaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccgcctt cgagagaaga gatgggcggg 1080

ttgccggggt gtaagtggga cttgctgatt aaacaatggg tgtgcgacct tctgggcggt 1140

accaagaatc aggtctcact gacatgtctc gtaaaagggt ttaccgctc agatatcgcg 1200

gtcgagtggg aatccaacgg acaaccgag aataactaca agacgactcc cccaatgctc 1260

gattcggatg gatccttctt ctttatagc aaacttacg tagacaaatc acggtggcag 1320

caggggaacg tgtttagctg ttcggtgatg cacgaagcct tgcataatca ctatacgag 1380

aagtcgcttt ccctgtcgcc gggaggggga ggtgggctcc ctggatgcaa gtgggatctt 1440

ttgatcaagc agtgggtctg cgaccccctc 1470

<210> 65

<211> 1473

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
полінуклеотид"

<400> 65

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cttctggatt tacctttagt agttattgga tgagttgggt ccgccaggct 120

ccagggaag ggctggagtg ggtggcctac ataaagcaag atggaaatga gaaatactat 180

gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcatgttat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagggaaggg 300

atactttggt tcggggactt accgacgttc tggggccagg gaaccctggt caccgtctct 360

agtgcctcca ccaagggccc atcggctctc ccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420
 gagagcacag cggccctggg ctgcctgtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
 tcgtggaact caggcgtct gaccagcggc gtgcacacct tccagctgt cctacagtcc 540
 tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcaactt cggcaccag 600
 acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag 660
 cgcaaatgtt gtgtcagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc 720
 ttctcttcc cccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 780
 tgcgtggtgg tggatgaag ccatggggga ctgcctggat gcaagtggga tcttctatt 840
 aagcaatggg tctgtgacct ttgggcgga gaggaccgg aagtcagtt caactgtac 900
 gtggacggcg tggagtgca taatccaag acaaagccac gggaggagca gttcaacagc 960
 acgttccgtg tggtcagcgt cctcaccgtt gtgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 1020
 tacaagtga aggtctcaa caaaggcctc ccagcccca tcagaaaaac catctcaaa 1080
 accaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc gccctcgag agaagagatg 1140
 ggccgggttc cggggtgtaa gtgggacttg ctgattaaac aatgggtgtg cgaccctctg 1200
 ggccgtacca agaatcaggt ctactgaca tgtctgtaa aaggttttta cccgtcagat 1260

atcgcggtcg agtgggaatc caacggacaa cccgagaata actacaagac gactccccc 1320

atgctcgatt cggatggatc cttcttcctt tatagcaaac ttacagtaga caaatcacgg 1380

tggcagcagg ggaacgtgtt tagctgttcg gtgatgcacg aagccttgca taatcactat 1440

acgcagaagt cgctttccct gtctccgggt aaa 1473

<210> 66

<211> 879

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
полінуклеотид"

<400> 66

atgcttcag gttgtaaatg ggatcttctt attaaacaat gggtttgta tccacttgg 60

tctggttctg ctactggtgg ttccggctcc accgcaagct ctggttcagg ttctgctact 120

catatgctgc cgggttgtaa atgggacctg ctgatcaaac agtgggtttg tgacccgctg 180

ggtggaggcg gtggggtcga caaaactcac acatgtccac ctgtccagc tccggaactc 240

ctggggggac cgtcagtcct cctctcccc ccaaaacca aggacacct catgatctcc 300

cggacccttg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtaag 360

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 420

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctaccg tctgcacca ggactggctg 480

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tccagcccc catcgagaaa 540

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtaccctt gccccatcc 600

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctatccc 660

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 720

cctcccgtgc tggactccga cggctcttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag 780

agcagggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcagaggc tctgcacaac 840

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaa 879

<210> 67

<211> 696

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 67

gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gccagcacc tgaactcctg 60

gggggaccgt cagtcttctt cttccccca aaaccaagg acacctcat gatctcccgg 120

acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc 180

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 240

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 300

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 360

atctcaaag ccaaagggca gcccagagaa ccacaggtgt acacctgcc ccatcccgg 420

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 480

gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 540

cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttc ctctatagca agctcacctg ggacaagagc 600

aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 660

tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 696

<210> 68

<211> 684

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 68

gagcgcaaat gttgtgtcga gtgcccaccg tgcccagcac cacctgtggc aggaccgtca 60

gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctccggac cctgaggtc 120

acgtgcgtgg tggaggacgt gagccacgaa gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg 180

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg aggagcagtt caacagcacg 240

ttcgtgtgg tcagctctct caccgtgtg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac 300

aagtgaagg tctccaacaa aggcctccca gccccatcg agaaaacat ctccaaaacc 360

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catccggga ggagatgacc 420

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggc aaaggcttct acccagcga catcgccgtg 480

gagtgaggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacacctcc catgctggac 540

tccgacggct ctttctctct ctacagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 600

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctgc acaaccacta cacgcagaag 660

agcctctccc tgtctccggg taaa 684

<210> 69

<211> 837

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 69

```

gagctcaaaa cccacttgg tgacacaact cacacatgcc cacggtgcc agagcccaaa   60

tcttgtaga cacctcccc gtgcccacgg tgcccagagc ccaaatcttg tgacacacct   120

ccccgtgcc cacggtgcc agagcccaaa tcttgtaga cacctcccc atgcccacgg   180

tgcccagcac ctgaactcct gggaggaccg tcagtcttc tcttcccc aaaaccaag   240

gataccctta tgattccc gaccctgag gtcacgtgcg tgggtgga cgtgagccac   300

gaagaccg aggtccagtt caagtgtac gtggacggcg tggagtgca taatccaag   360

aaaaagccg gggaggagca gttcaacagc acgtccgtg tggtcagcgt cctcacctc   420

ctgaccagg actggtgaa cggcaaggag tacaagtga aggtctcaa caaagccctc   480

ccagcccca tcgagaaaac catctcaaa accaaaggac agcccgaga accacaggtg   540

tacacctgc cccatccc ggaggagatg accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg   600

gtcaaaggct tctaccag cgacatgcc gtggagtggg agagcagcgg gcagccggag   660

aacaactaca acaccagcc tccatgctg gactccgacg gctctctt cctctacagc   720

aagctcaccg tggacaagag caggtggcag cagggaaca tcttctatg ctccgtgatg   780

```


catgaggctc tgcacaaccg cttcacgcag aagagcctct cctgtctcc gggtaaa 837

<210> 70

<211> 687

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 70

gagtcctaat atggtccccc atgcccata tgcccagcac ctgagttcct ggggggacca 60

tcagtcttcc tgttccccc aaaaccaag gacacttca tgatctccg gaccctgag 120

gtcacgtgcg tgggtgga cgtgagccag gaagacccg aggtccagtt caactgtac 180

gtgatggcg tggaggtgca taatgccaag acaagccgc gggaggagca gttcaacagc 240

acgtaccgtg tggtcagcgt cctaccgtc ctgaccagg actggctgaa cggcaaggag 300

tacaagtga aggtctcaa caaaggcctc cgtcctcca tcgagaaaac catctcaaa 360

gccaaaggcg agccccgaga gccacaggtg tacaccctgc cccatcca ggaggagatg 420

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctacccag cgacatgcc 480

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tccgtgctg 540

gactccgacg gctccttct cctctacagc aggctaaccg tggacaagag caggtggcag 600

gaggggaatg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacacag 660

aagagcctct ccctgtctct gggtaaa 687

<210> 71

<211> 25

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний
пептид"

<400> 71

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

20 25

<210> 72

<211> 5

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<221> source

<223> /note="Опис штучної послідовності: синтетичний

пептид"

<400> 72

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Біспецифічний білок, що містить:
- (а) поліпептид, який містить амінокислотну послідовність, що має наступну формулу: A-L1-P-L2-P, де А являє собою важкий ланцюг імуноглобуліну антитіла IgG, L1 являє собою перший пептидний лінкер, який відсутній або довжина якого становить від 3 до 40 амінокислот, Р являє собою BAFF-зв'язуючий пептид, довжина якого становить від 10 до 40 амінокислот, та L2 являє собою другий пептидний лінкер, який відсутній або довжина якого складає від 5 до 50 амінокислот; і при цьому важкий ланцюг імуноглобуліну (а) та легкий ланцюг імуноглобуліну (б) формують антитіло IgG, що містить дві молекули поліпептиду (а) та дві молекули легкого ланцюга (б), яке може зв'язуватися з B7RP1; та
- 10 (б) легкий ланцюг імуноглобуліну антитіла IgG;
- 15 причому важкий ланцюг імуноглобуліну (а) та легкий ланцюг імуноглобуліну (б) формують антитіло IgG, яке зв'язується з B7RP1, при цьому даний білок містить дві молекули поліпептиду (а) та дві молекули легкого ланцюга (б);
- причому Р має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1 (LPGCKWDLLIKQWVCDPL);
- причому поліпептид (а) містить CDR1 важкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 11 (SYWMS), CDR2 важкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 12 (YIKQDGNKYYVDSVKG), та CDR3 важкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 13 (EGILWFGDLPTF);
- 20 причому легкий ланцюг імуноглобуліну (б) містить CDR1 легкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 8 (RASQGISNWL A), CDR2 легкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 9 (AASSLQS), CDR3 легкого ланцюга, яка має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 10 (QQYDSYPRT);
- 25 причому даний білок інгібує BAFF-опосередковану проліферацію В-клітин людини, та причому даний білок інгібує B7RP1-опосередковану проліферацію Т-клітин людини.
- 30 2. Біспецифічний білок за п. 1, який **відрізняється** тим, що у важкому ланцюзі імуноглобуліну відсутній лізін на С-кінці відразу попереду L1.
3. Біспецифічний білок за п. 1 або п. 2, який **відрізняється** тим, що антитіло IgG являє собою людське або гуманізоване антитіло IgG1 до B7RP1.
4. Біспецифічний білок за п. 1 або п. 2, який **відрізняється** тим, що антитіло до B7RP1 являє собою людське або гуманізоване антитіло IgG2 або людське або гуманізоване антитіло IgG4.
- 35 5. Біспецифічний білок за будь-яким із пп. 1-4, який **відрізняється** тим, що L1 має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 40 (GGGGG).
6. Біспецифічний білок за будь-яким із пп. 1-5, який **відрізняється** тим, що L2 має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 5, причому за варіантом, якому надають перевагу, L2 має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 6 або SEQ ID NO: 7.
- 40 7. Біспецифічний білок за будь-яким із пп. 1-6, що містить варіабельний домен легкого ланцюга імуноглобуліну, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 14.
8. Біспецифічний білок за будь-яким із пп. 1-7, що містить варіабельний домен важкого ланцюга імуноглобуліну, який має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 15.
9. Біспецифічний білок за будь-яким із пп. 1-8, який **відрізняється** тим, що легкий ланцюг імуноглобуліну (б) має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19.
- 45

10. Біспецифічний білок за будь-яким із пп. 1-8, який **відрізняється** тим, що поліпептид (а) має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17 або 18.
11. Біспецифічний білок за п. 1, де:
- (а) поліпептид (а), зазначений у п. 1, має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17 або SEQ ID NO: 18, та
- (б) поліпептид (б), зазначений у п. 1, має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 19.
12. Біспецифічний білок за п. 11, який **відрізняється** тим, що поліпептид (а) має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 17.
13. Біспецифічний білок за п. 11, який **відрізняється** тим, що поліпептид (б) має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 18.
14. Фармацевтична композиція, яка містить біспецифічний білок за будь-яким із пп. 1-13 та фізіологічно прийнятну допоміжну речовину.
15. Нуклеїнова кислота, яка кодує біспецифічний білок за будь-яким із пп. 1-13.
16. Вектор, що містить нуклеїнову кислоту за п. 15.
17. Клітина-хазяїн, яка містить нуклеїнову кислоту за п. 15 та/або вектор за п. 16.
18. Спосіб одержання біспецифічного білка, що включає:
- культивування клітини-хазяїна за п. 17 у таких умовах, які забезпечують експресію нуклеїнової кислоти, та
- виділення білка із клітинної маси або культурального середовища.
19. Спосіб за п. 18, який **відрізняється** тим, що клітина-хазяїн являє собою клітину ссавця або клітину *Escherichia coli*, при цьому за варіантом, якому надають перевагу, клітина ссавця являє собою клітину CHO.
20. Біспецифічний білок за будь-яким із пп. 1-13 або фармацевтична композиція за п. 14 для застосування при лікуванні системного червоного вовчака, вовчакового нефриту або ревматоїдного артриту.
21. Біспецифічний білок або фармацевтична композиція за п. 20 для застосування при лікуванні системного червоного вовчака, вовчакового нефриту або ревматоїдного артриту, за якого інший терапевтичний засіб вводять пацієнтові до, після або одночасно із біспецифічним білком, причому цей інший терапевтичний засіб являє собою кортикостероїд, протималарійний засіб, ретиноеву кислоту, НПЗЗ, циклофосфамід, дегідроепіандростерон, мофетилу мікофенолят, азатіоприн, хлорамбуцил, метотрексат, такролімус, дапсон, талідомід, лефлуномід або циклоспорин, причому переважно за варіантом, якому надають перевагу, цей інший терапевтичний засіб являє собою мофетилу мікофенолят, кортикостероїд, протималарійний засіб, метотрексат або азатіоприн.
22. Біспецифічний білок за будь-яким із пп. 1-13 для застосування як лікарської речовини.

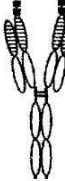


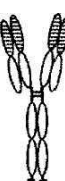

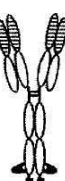

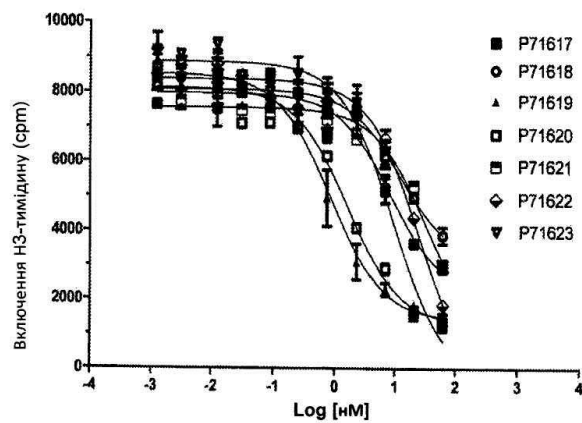
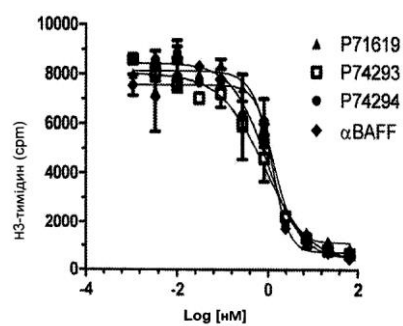
Назва конструкції	P71917	P71618	P71619	P71620	P71621	P71622	P71523
Характеристика конструкції	N-злиття-NC	N-злиття-LC	C-злиття-1K	C-злиття-G4S	2×Fc-петля	1×Fc-петля 1×C-злиття	1×CH2 1×CH3
Структура конструкції							

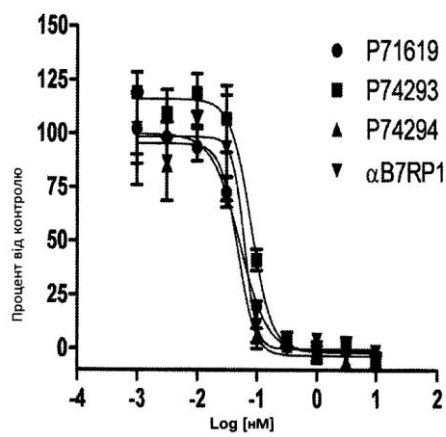
Fig. 1



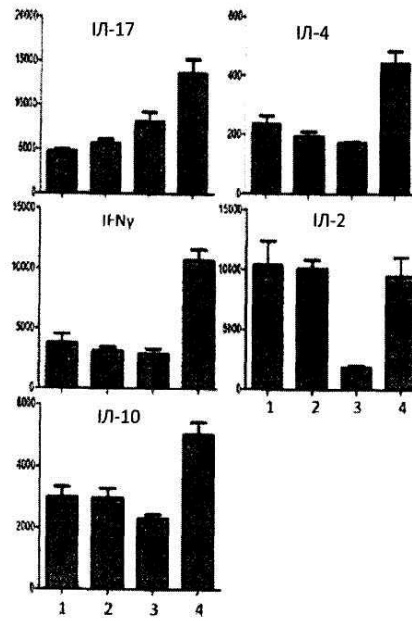
Фіг. 2А



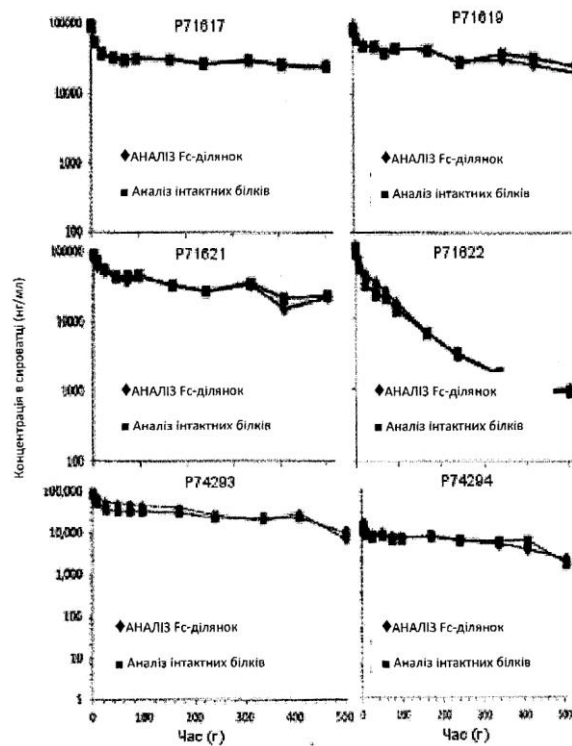
Фіг. 2Б



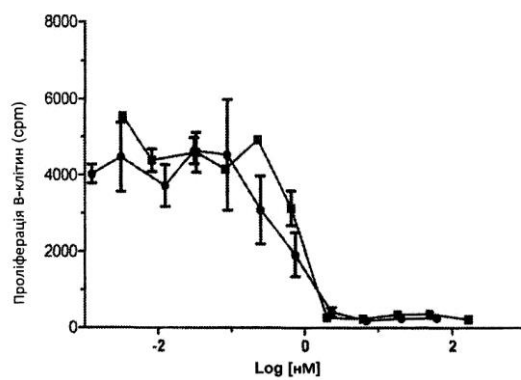
Фіг. 3



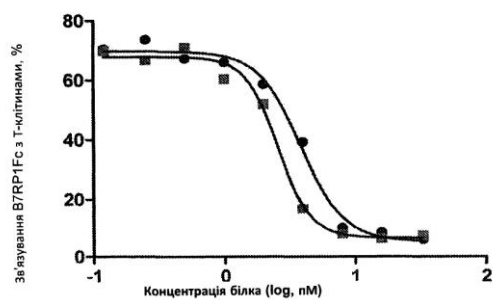
Фіг. 4



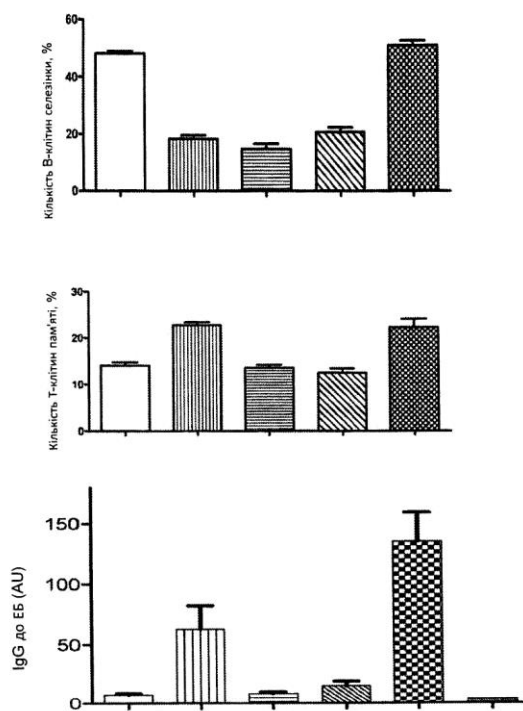
Фіг. 5



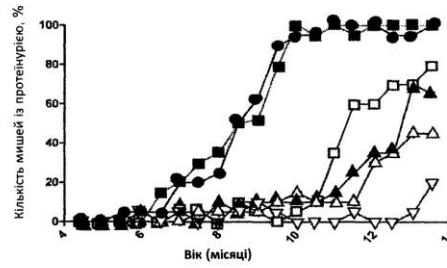
Фиг. 6А



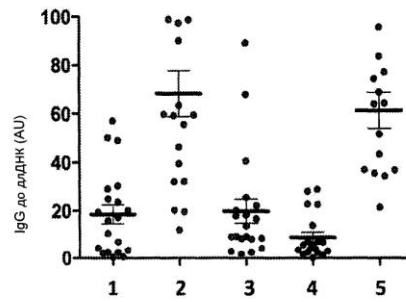
Фиг. 6Б



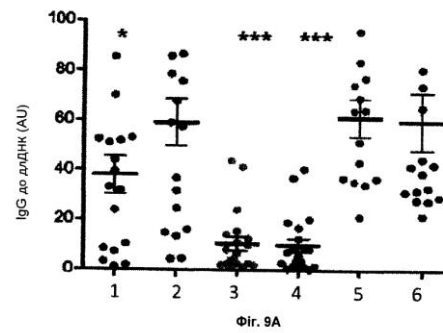
Фиг. 7



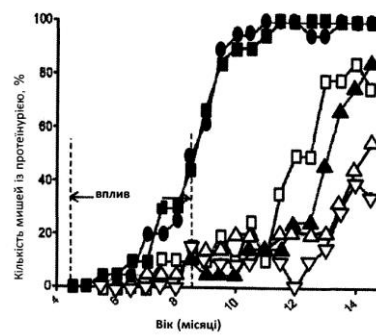
Фіг. 8А



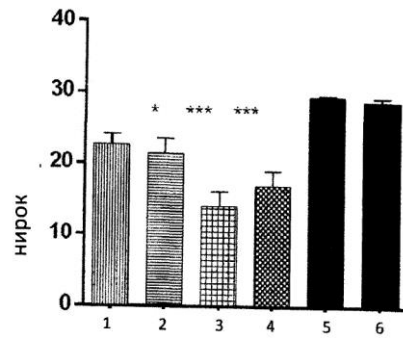
Фіг. 8Б



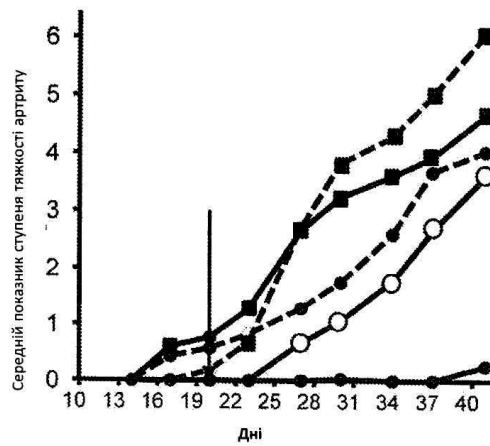
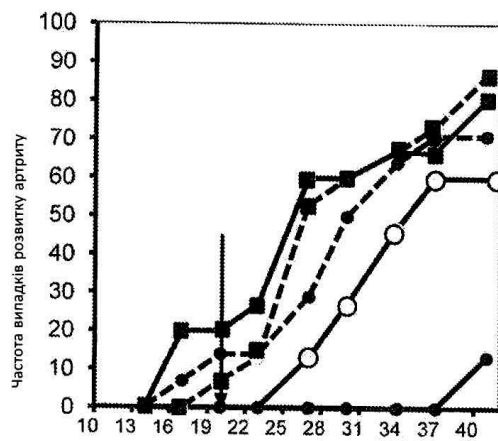
Фіг. 9А



Фіг. 9Б



Фіг. 10



Фіг. 11

Комп'ютерна верстка В. Мацело

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601