

**УКРАЇНА****(19) UA****(11) 121973****(13) C2****(51) МПК****A61K 39/395** (2006.01)**C07K 14/475** (2006.01)**A61K 47/68** (2017.01)**A61P 3/04** (2006.01)**A61P 3/10** (2006.01)

**МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ**

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2017 02260	(72) Винахідник(и): Шен Уеньян (US), Ліндхаут Даррін (US), Халданкар Радж (US), Матерн Хуго (US)
(22) Дата подання заявки: 29.10.2015	(73) Власник(и): НДЖМ БІОФАРМАСЬЮТІКАЛЗ, ІНК., 333 Oyster Point Boulevard, South San Francisco, California 94080, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 25.08.2020	(74) Представник: Шляховецький Ілля Олександрович, реєстр. №190
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 62/073,737, 62/244,604	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2014120619 A2, 07.08.2014 WO 2010019263 A2, 18.06.2010 WO 2013113008 A1, 18.06.2013 RIDGWAY et al. Knobs-into-holes' engineering of antibody chs domains for heavy chain heterodimerization. Protein engineering, Oxford university press, Surrey, GB, 1996, Vol. 9, no. 7, 1 P. 617 – 621
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 31.10.2014, 21.10.2015	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US, US	
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.10.2017, Бюл.№ 19	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.08.2020, Бюл.№ 16	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ РСТ/US2015/058111, 29.10.2015	

(54) КОМПЛЕКС, ЩО МАЄ АКТИВНІСТЬ ФАКТОРА ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ РОСТУ 15 (GDF15), ТА СПОСОБИ ЛІКУВАННЯ НИМ ОЖИРІННЯ ТА ГІПЕРГЛІКЕМІЇ У СУБ'ЄКТА**(57) Реферат:**

Винахід стосується комплексу, який містить GDF15 поліпептид. Запропоновано способи лікування індивідів із порушенням метаболізму, таким як порушення метаболізму глюкози і/або розлад маси тіла і композиції, пов'язані з ними.

UA 121973 C2

Включення переліків послідовностей шляхом посилання

[0001] В цій заявці представлено перелік послідовностей у вигляді текстового файлу розміром 188 кб "NGMB-142_SeqList.txt", який створено 28 жовтня 2015 року. Зміст вказаного текстового файлу в повному обсязі включено у цей документ за шляхом посилання.

5 Перехресне посилання на споріднені заявки

[0002] В даній заявці заявляється пріоритет за попередньою заявкою на видачу патенту США з серійним номером 62/073737, яку подано 31 жовтня 2014 року, і попередньою заявкою на патент США з серійним номером 62/244604, яку подано 21 жовтня 2015 року, які включено у цей документ шляхом посилання у повному об'ємі.

10 Галузь техніки

[0003] Цей винахід відноситься в тому числі до поліпептидного комплексу і його композиціям, які можна застосовувати для лікування станів, які пов'язані з метаболізмом.

Введення

[0004] Причиною ожиріння найчастіше є надмірне споживання їжі в поєднанні з обмеженою витратою енергії і/або відсутністю фізичних вправ. Ожиріння збільшує ймовірність розвитку різних захворювань, наприклад, цукрового діабету, гіпертензії, атеросклерозу, захворювання коронарних артерій, синдрому апное уві сні, подагри, ревматизму і артриту. Крім того, ризик смертності безпосередньо корелює з ожирінням, так що, наприклад, індекс маси тіла понад 40 призводить до середнього зменшення очікуваної тривалості життя більш ніж на 10 років.

20 [0005] Сучасні методи медикаментозного лікування включають пригнічувачі апетиту, які орієнтовані на класи рецепторів (наприклад, CB1, 5-HT_{2C}, і NPY); регулятори ланцюгів апетиту в гіпоталамусі і молекулярної дії греліну; та інгібітори поглинання поживних речовин, спрямовані на ліпазу. На жаль, жоден з існуючих способів не забезпечує ефективне лікування ожиріння, не викликаючи несприятливих ефектів, деякі з яких можуть бути дуже серйозними.

25 [0006] Високий рівень глюкози в крові стимулює секрецію інсуліну бета-клітинами підшлункової залози. Інсулін, у свою чергу, стимулює проникнення глюкози у м'язи та жирові клітини, що призводить до накопичення глікогену і тригліцеридів і синтезу білків. Активація рецепторів інсуліну на клітинах різних типів знижує рівень глюкози у кровотоці за рахунок збільшення поглинання та утилізації глюкози, а також зменшення утворення глюкози в печінці. Роз'єднання в цій регуляторній мережі може призвести до діабету і пов'язаних з ним патологічних синдромів, які спостерігаються у значного і зростаючого відсотка людської популяції.

30 [0007] Пацієнти з порушенням метаболізму глюкози можуть страждати від гіперглікемії, гіперінсулінемії і/або непереносимості глюкози. Прикладом розладу, який часто асоціюється з патологічним рівнем глюкози і/або інсуліну, є інсулінрезистентність при якій клітини печінки, жирові і м'язові клітини втрачають здатність реагувати на рівень інсуліну в крові.

35 [0008] З урахуванням поширеності і тяжкості ожиріння, діабету і пов'язаних з ними метаболічних і неметаболічних розладів, зберігається інтерес до способів лікування, які модулюють, наприклад, апетит, рівні глюкози і/або інсуліну і підсилюють біологічну реакцію на коливання рівня глюкози у пацієнта.

40 [0009] GDF15 дикого типу, також відомий як MIC-1 (інгібіторний цитокін макрофагів-1), пов'язаний з регуляцією маси тіла (Tsai V.W., et al., PLoS One 2013; 8 (2): e55174; US 8192735).

Суть винаходу

45 [0010] Представлено модифіковані GDF15 поліпептиди для лікування метаболічних розладів. Модифіковані GDF15 поліпептиди можуть бути представлені в комплексі. Комплекс цього опису може містити два GDF15 поліпептиди.

[0011] В деяких випадках, комплекс згідно цього винаходу містить перший поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить CH3 послідовність, яка містить щонайменше одне сконструйоване вип'ячування; і другий поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить CH3 послідовність, яка містить щонайменше одну сконструйовану впадину, причому перший поліпептид димеризується з другим поліпептидом за допомогою позиціонування вип'ячування першого поліпептиду у впадину другого поліпептиду, і, при цьому або С-кінець першого поліпептиду, або С-кінець другого поліпептиду кон'юговано з N-кінцем мутеїна GDF15, який містить щонайменше один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання.

55 [0012] У деяких випадках, комплекс згідно цього винаходу містить перший гетеродимер і другий гетеродимер, кожен з першого і другого гетеродимерів містять перший поліпептид і другий поліпептид, перший поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить послідовність CH3, яка містить щонайменше одне сконструйоване вип'ячування; і другий поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-

послідовність IgG містить послідовність CH3, яка містить щонайменше одну сконструйовану впадину; причому перший поліпептид димеризується з другим поліпептидом за допомогою позиціонування вип'ячування першого поліпептиду у впадину другого поліпептиду, і причому або С-кінець першого поліпептиду, або С-кінець другого поліпептиду кон'юговано з N-кінцем

5 мутеїна GDF15, який містить щонайменше один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання, і, причому, мутеїн GDF15 у першому гетеродимері димеризується з мутеїном GDF15 у другому гетеродимері тим самим формуючи комплекс, який містить перший гетеродимер і другий гетеродимер.

[0013] В ілюстративних варіантах реалізації винаходу, С-кінець першого поліпептиду може бути кон'юговано з N-кінцем мутеїна GDF15. В інших випадках, С-кінець другого поліпептиду може бути кон'юговано з N-кінцем мутеїна GDF15.

[0014] Також у цьому документі перший розглянуто поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить послідовність CH3, яка містить щонайменше одне сконструйоване вип'ячування, причому перший поліпептид димеризується з

15 другим поліпептидом, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить послідовність CH3, яка містить щонайменше одну сконструйовану впадину; і мутеїн GDF15, який містить щонайменше один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання, причому С-кінець першого поліпептиду кон'юговано з N-кінцем мутеїна GDF15. Перший поліпептид може бути представлено у комплексі, який може також містити другий поліпептид.

[0015] Також в цьому документі описано перший поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить послідовність CH3, яка містить щонайменше одну сконструйовану впадину, причому перший поліпептид димеризується з другим поліпептидом, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить CH3 послідовність, яка містить щонайменше одне сконструйоване вип'ячування; і мутеїн GDF15, який містить

20 щонайменше один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання, причому С-кінець першого поліпептиду кон'юговано з N-кінцем мутеїна GDF15. Перший поліпептид може бути представлено у комплексі, який може також містити другий поліпептид.

[0016] У певних випадках, мутеїн GDF15 у комплексі може містити безперервну амінокислотну послідовність, яка щонайменше на 90 % ідентична амінокислотній послідовності

30 дикого типу GDF15 (SEQ ID NO:1). Наприклад, мутеїн GDF15 може містити щонайменше одну заміну відповідної амінокислоти в SEQ ID NO:1, яка створює консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання, наприклад, заміна може бути D5T або D5S. В інших випадках, заміна може бути R21N.

[0017] В ілюстративних випадках, мутеїн GDF15 може містити щонайменше одну з наступних пар заміни відповідних амінокислот у SEQ ID NO:1, яка створює консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання: R16N і H18T/S; S23N і E25T/S; L24N і D26T/S; S50N і F52T/S; F52N і A54T/S; Q51N і R53T/S; R53N і A55T/S; S64N і H66T/S; L65N і R67T/S; S82N і N84T/S; K91N і D93T/S; D93N і G95T/S; T94N і V96T/S; V96N і L98T/S; S97N і Q99T/S; і A106N і D108T/S.

[0018] В ілюстративних випадках, мутеїн GDF15 може містити щонайменше одну з наступних пар заміни відповідних амінокислот у SEQ ID NO:1, яка створює консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання: R16N і H18T; S23N і E25T; L24N і D26T; S50N і F52T; F52N і A54T; Q51N і R53T; R53N і A55T; S64N і H66T; L65N і R67T; S82N і N84T; K91N і D93T; D93N і G95T; T94N і V96T; V96N і L98T; S97N і Q99T; і A106N і D108T.

[0019] У деяких випадках, мутеїн GDF15 може містити щонайменше одну з наступних пар заміни відповідних амінокислот у SEQ ID NO:1, яка створює консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання: R16N і H18S; S23N і E25S; L24N і D26S; S50N і F52S; F52N і A54S; Q51N і R53S; R53N і A55S; S64N і H66S; L65N і R67S; S82N і N84S; K91N і D93S; D93N і G95S; T94N і V96S; V96N і L98S; S97N і Q99S; і A106N і D108S.

[0020] В деяких варіантах реалізації винаходу, мутеїн GDF15 може містити щонайменше

50 одну з наступних пар заміни відповідних амінокислот у SEQ ID NO:1: S23N і E25T/S; R53N і A55T/S; S64N і H66T/S; K91N і D93T/S; D93N і G95T/S; S97N і Q99T/S; і A106N і D108T/S.

[0021] В деяких варіантах реалізації винаходу, мутеїн GDF15 може містити щонайменше одну з наступних пар заміни відповідних амінокислот у SEQ ID NO:1: S23N і E25T; R53N і A55T; S64N і H66T; K91N і D93T; D93N і G95T; S97N і Q99T; і A106N і D108S.

[0022] В деяких варіантах реалізації винаходу, мутеїн GDF15 може містити щонайменше одну з наступних пар заміни відповідних амінокислот у SEQ ID NO:1: S23N і E25S; R53N і A55S; S64N і H66S; K91N і D93S; D93N і G95S; S97N і Q99S; і A106N і D108S.

[0023] В деяких варіантах реалізації винаходу, мутеїн GDF15 може містити щонайменше одну з наступних пар заміни відповідних амінокислот у SEQ ID NO:1: S64N і H66T/S; K91N і D93T/S; D93N і G95T/S; і S97N і Q99T/S. Наприклад, мутеїн GDF15 може містити щонайменше

60

одну з наступних пар заміन відповідних амінокислот у SEQ ID NO:1: S64N і H66T; K91N і D93T; D93N і G95T; і S97N і Q99T; або S64N і H66S; K91N і D93S; D93N і G95S; і S97N і Q99S.

5 [0024] В інших варіантах реалізації винаходу, мутеїн GDF15 може містити щонайменше одну з наступних пар замін відповідних амінокислот у SEQ ID NO:1: K91N і D93T або D93S; і D93N і G95T або G95S.

[0025] В інших варіантах реалізації винаходу, мутеїн GDF15 у комплексі може містити безперервну амінокислотну послідовність, яка може бути щонайменше 98 амінокислот довжиною і може бути щонайменше на 90 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1, де С-кінцева амінокислота мутеїна GDF15 відповідає ізолейцину в положенні 112 в SEQ ID NO:1.

[0026] В інших варіантах реалізації винаходу, безперервна амінокислотна послідовність може бути довжиною щонайменше 98 амінокислот і може бути щонайменше на 95 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1, де С-кінцева амінокислота мутеїна GDF15 відповідає ізолейцину в положенні 112 в SEQ ID NO:1.

15 [0027] Ілюстративний мутеїн GDF15 представлено в комплексі, який описано в цьому документі, містить безперервну амінокислотну послідовність, довжина якої становить щонайменше 98 амінокислот, щонайменше на 90 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1, і містить делецію амінокислот порівняно з SEQ ID NO:1, наприклад, поліпептиди можуть бути вкорочені з N-кінця порівняно з SEQ ID NO:1. Вкорочення з N-кінця може бути на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або більше амінокислот порівняно з SEQ ID NO:1, наприклад, на 1-14 амінокислот, 2-14 амінокислот, 3-14 амінокислот, 2-3 амінокислот, 3-5 амінокислот або 4-6 амінокислот.

20 [0028] Ілюстративні комплекси, які описано в цьому документі, містять мутеїн GDF15, який містить безперервну амінокислотну послідовність щонайменше 98 амінокислот довжиною і щонайменше на 95 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1, причому С-кінцева амінокислота поліпептиду відповідає ізолейцину в положенні 112 в SEQ ID NO:1.

25 [0029] У деяких випадках, довжина безперервної амінокислотної послідовності у мутеїна GDF15 становить щонайменше 98 амінокислот і не містить першу амінокислоту, яка відповідає першій амінокислоті, яка присутня на N-кінці SEQ ID NO:1, причому С-кінцева амінокислота відповідає ізолейцину в положенні 112 в SEQ ID NO:1.

[0030] У деяких випадках, довжина безперервної амінокислотної послідовності у мутеїна GDF15 становить щонайменше 98 амінокислот і не містить перші дві амінокислоти, які відповідають першим двом амінокислотам, які присутні на N-кінці SEQ ID NO:1, причому С-кінцева амінокислота відповідає ізолейцину в положенні 112 в SEQ ID NO:1.

35 [0031] У деяких випадках, довжина безперервної амінокислотної послідовності становить щонайменше 98 амінокислот і не містить перші три амінокислоти, які відповідають першим трьом амінокислотам, які присутні на N-кінці SEQ ID NO:1, причому С-кінцева амінокислота відповідає ізолейцину в положенні 112 в SEQ ID NO:1.

40 [0032] У деяких випадках, довжина безперервної амінокислотної послідовності становить щонайменше 98 амінокислот і не містить перші шість амінокислот, які відповідають першим шести амінокислотам, які присутні на N-кінці SEQ ID NO:1, причому С-кінцева амінокислота відповідає ізолейцину в положенні 112 в SEQ ID NO:1.

45 [0033] У деяких випадках, довжина безперервної амінокислотної послідовності становить щонайменше 98 амінокислот і не містить перші чотирнадцять амінокислот, які відповідають першим чотирнадцяти амінокислотам, які присутні на N-кінці SEQ ID NO:1.

[0034] У деяких випадках, С-кінець або першого поліпептиду (наприклад, Fc-виступ), або другого поліпептиду (наприклад, Fc-западина) кон'юговано с N-кінцем мутеїна GDF15 через лінкер. Ілюстративні лінкери містять послідовність (G₄S)_n, при цьому n може дорівнювати від 1 до 10, наприклад, 1-5 або 2-5, для Прикладів 2, 3, 4 або 5.

50 [0035] У певних випадках, Fc IgG містить безперервну амінокислотну послідовність щонайменше на 90 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:2 (Fc-послідовність IgG1 людини). Сконструйоване вип'ячування може включати в себе щонайменше одну заміну відповідної амінокислоти у Fc-послідовності IgG1 людини, причому заміна відбувається в положенні, яке обрано з групи, яка складається з амінокислотних залишків 347, 366 і 394, у відповідності з нумерацією ЕС. Наприклад, щонайменше одна заміна є обраною з групи, яка складається з Q347W/Y, T366W/Y і T394W/Y у відповідності з нумерацією ЕС.

55 [0036] У певних випадках, сконструйована западина містить щонайменше одну заміну відповідної амінокислоти у Fc-послідовності IgG1 людини, причому заміна відбувається в положенні, яке обрано з групи, яка складається з амінокислотних залишків 366, 368, 394, 405 і 407, у відповідності з нумерацією ЕС. Наприклад, щонайменше одна заміна є обраною з групи,

яка складається з T366S, L368A, T394S, F405T/V/A і Y407T/V/A у відповідності з нумерацією ЄС.

[0037] У певних випадках, вип'ячування може містити заміну T366W/Y і западина може містити заміни T366S, L368A і Y407T/V/A, у відповідності з нумерацією ЄС.

[0038] Наприклад, вип'ячування може містити заміну T366W/Y і западина може містити заміну Y407T/V/A у відповідності з нумерацією ЄС. В інших випадках, вип'ячування може містити заміну T366Y і западина може містити заміну Y407T у відповідності з нумерацією ЄС. В інших прикладах, вип'ячування може містити заміну T366W і западина може містити заміну Y407A у відповідності з нумерацією ЄС. У подальших прикладах, вип'ячування може містити заміну T394Y і западина може містити заміну Y407T у відповідності з нумерацією ЄС.

[0039] У певних варіантах реалізації винаходу, Fc-послідовності IgG першого та другого поліпептидів можуть кожний містити шарнірну ділянку, яка формує щонайменше один дисульфідний зв'язок між першим і другим поліпептидами. У певних варіантах реалізації винаходу, Fc-послідовності IgG першого та другого поліпептидів можуть кожний містити шарнірну ділянку, CH2 ділянку і CH3 ділянку, де шарнірна ділянка формує щонайменше один дисульфідний зв'язок між першим і другим поліпептидами.

[0040] Також в цьому документі описано молекулу нуклеїнової кислоти, яка кодує описані вище перший та другий поліпептиди. Молекула нуклеїнової кислоти може бути функціонально пов'язана з елементом, який контролює експресію, який забезпечує експресію молекули нуклеїнової кислоти, яка кодує поліпептиди *in vitro* або *in vivo*. Крім того, розглядається вектор, який містить молекулу нуклеїнової кислоти. Вектор може бути вірусним вектором. У певних випадках представлено першу нуклеїнову кислоту, яка кодує перший поліпептид, і другу нуклеїнову кислоту, яка кодує другий поліпептид. Кожна нуклеїнова кислота функціонально пов'язана з елементом, який контролює експресію, який забезпечує експресію першого та другого поліпептидів із першої і другої нуклеїнових кислот відповідно. Також описано перший вектор, який містить першу нуклеїнову кислоту і другий вектор, який містить другу нуклеїнову кислоту. Як вже зазначалося тут, вектор може бути вірусним вектором.

[0041] Деякі варіанти реалізації включають трансформовані клітини-хазяї, які експресують один або більше з вищезазначених поліпептидів. Наприклад, представлено клітину-хазяїна, яка містить першу і другу нуклеїнові кислоти. Клітина-хазяїн експресує перший поліпептид і другий поліпептид.

[0042] В конкретних варіантах реалізації цього опису, один або більше з вищезазначених комплексів розроблено для отримання фармацевтичної композиції, причому композиція також містить один або більше з фармацевтично прийнятних розріджувачів, носіїв або допоміжних речовин. У деяких варіантах реалізації фармацевтична композиція також містить щонайменше один додатковий профілактичний або терапевтичний агент.

[0043] Також розкрито композицію (наприклад, фармацевтична композиція) з одного або більше вищезазначених комплексів для лікування або профілактики розладу маси тіла у суб'єкту; для лікування або профілактики порушення метаболізму глюкози у суб'єкту. Композиція може містити кількість комплексу, яка є ефективною для лікування або профілактики розладу маси тіла у суб'єкта. Композиція може містити кількість комплексу, яка є ефективною для лікування або профілактики порушення метаболізму глюкози у суб'єкту.

[0044] Подальші варіанти реалізації цього винаходу містять антитіло, яке специфічно зв'язується з одним із вищезазначених першим або другим поліпептидами.

[0045] Крім того, у цьому описі розглядаються фармацевтичні композиції, які містять антитіло, яке описано вище, у складі з щонайменше однією фармацевтично прийнятною допоміжною речовиною, носієм або розріджувачем. Такі фармацевтичні композиції також можуть містити щонайменше один додатковий профілактичний або терапевтичний агент.

[0046] Деякі варіанти реалізації цього винаходу передбачають стерильний контейнер, який містить одну із зазначених вище фармацевтичних композицій і не обов'язково один або кілька додаткових компонентів. В якості прикладу, але не обмежуючись ним, стерильний контейнер може представляти собою шприц. У подальших варіантах реалізації стерильний контейнер є одним із компонентів набору; набір також може містити, наприклад, другий стерильний контейнер, який містить щонайменше один профілактичний або терапевтичний агент.

[0047] Крім того, у цьому документі описано спосіб виготовлення вищезазначених поліпептидів і комплексів. Спосіб може включати культивування клітини-хазяїна, яка експресує поліпептиди; і виділення комплексу, який містить експресовані поліпептиди.

[0048] У цьому винаході також розглядається спосіб лікування або профілактики порушення метаболізму глюкози у суб'єкта (наприклад, людини) шляхом введення суб'єкту терапевтично ефективного кількості вищезгаданого комплексу. У деяких способах лікування або профілактика призводить до зменшення рівня глюкози в плазмі суб'єкта, зменшення рівня інсуліну в плазмі

суб'єкта, зменшення маси тіла і/або споживання їжі або підвищенню переносності глюкози у суб'єкта. У конкретних варіантах реалізації порушення метаболізму глюкози являє собою цукровий діабет.

[0049] Крім того, описано спосіб лікування або профілактики розладу маси тіла у суб'єкта.
5 Спосіб може включати введення суб'єкту комплексу згідно цього опису, причому комплекс вводять у кількості, ефективній для лікування або профілактики розладу маси тіла у суб'єкту. У деяких способах лікування або профілактика призводить до зменшення маси тіла і/або споживання їжі у суб'єкта.

[0050] В деяких варіантах реалізації суб'єкт страждає ожирінням і/або розладом маси тіла.

10 [0051] Хоча цей винахід не обмежується яким-небудь конкретним шляхом введення або схемою прийому, у деяких варіантах реалізації введення здійснюють шляхом парентеральної (наприклад, підшкірної) ін'єкції.

Короткий опис графічних матеріалів

15 [0052] На Фіг. 1 продемонстровано схематичний малюнок гомодимерного комплексу гетеродимерів молекул (Fc/Fc)-GDF15, де Fc/Fc поліпептиди мають виступ-у-западину Fc пари (A-F) і включення N-зв'язаних гліканів в молекулу GDF15 (E, F) для посилення експресії та збирання гомодимерного комплексу гетеродимерів.

20 [0053] На Фіг. 2A продемонстровано відновлення з Exрi 293F транз'єнтної експресії сконструйованих (Fc/Fc)-GDF15 комплексів. Відновлення відбувається наступним чином: (0 = агрегати/без експресії, < 25 мг/л, 25 мг/л - 49,9 мг/л, 50 мг/л - 74,9мг/л, 75 мг/л - 99,0 мг/л, > 100 мг/л). Додавання N-зв'язаних гліканів в послідовність GDF15 в (Fc/Fc)-GDF15 забезпечує значне підвищення загального відновлення після очищення. На Фіг. 2B продемонстровано відновлення із Exрi 293F транз'єнтної експресії дикого типу GDF15 і GDF15- глікозильованих мутантів (глікомутеїнів), які не кон'юговано з Fc.

25 [0054] На Фіг. 3 продемонстровано зменшення маси тіла в мишачій моделі з ожирінням, індукованим дієтою (DIO), при підшкірній доставці 0,4 нмоль/кг (Fc/Fc)-GDF15 комплексів один раз на тиждень протягом 4 тижнів, а потім 14-денного періоду відновлення. B13a/B13b варіант має значно покращену ефективність порівняно з B9a/B9b і B11a/B11b варіантами.

30 [0055] На Фіг. 4 продемонстровано відсоток зменшення маси тіла в мишачій моделі DIO при підшкірній доставці 0,4 нмоль/кг (Fc/Fc)-GDF15 комплекса один раз на тиждень протягом 4 тижнів, а потім 14-денного періоду відновлення. B13a/B13b варіант має % зміни маси тіла без урахування середовища-носія більш ніж на 20 % після 14 днів відновлення після дозування.

35 [0056] На Фіг. 5 продемонстровано зменшення маси тіла в мишачій моделі DIO при підшкірній доставці 4,0 нмоль/кг (Fc/Fc)-GDF15 комплексів один раз на тиждень протягом 4 тижнів, а потім 14-денного періоду відновлення.

[0057] На Фіг. 6 продемонстровано відсоток зменшення маси тіла в мишачій моделі DIO при підшкірній доставці 4,0 нмоль/кг (Fc/Fc)-GDF15 комплексів один раз на тиждень протягом 4 тижнів, а потім 14-денного періоду відновлення.

40 [0058] На Фіг. 7 і 8 узагальнено зменшення маси тіла (включаючи SEM і р-значення), яке спостерігається, для кожної групи DIO мишей (n=6) для 0,4 нмоль/кг і 4,0 нмоль/кг груп доз, які зображено на Фіг. 3 і 5. Для всіх груп, (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$ і *** = $p < 0,001$) за допомогою непараметричного t-тесту.

45 [0059] На Фіг. 9 узагальнено відсоток зменшення маси тіла (включаючи SEM і р-значення) для кожної групи DIO мишей (n=6) для 0,4 нмоль/кг і 4,0 нмоль/кг груп доз, які зображено на Фіг. 4 і 6. Для всіх груп, (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$ і *** = $p < 0,001$) за допомогою непараметричного t-тесту.

Детальний опис суті винаходу

50 [0060] Перед подальшим описом способів і композицій згідно цього винаходу слід розуміти, що цей винахід не обмежується конкретними варіантами реалізації, описаними в цьому документі, а також слід розуміти, що термінологія, використовувана в цьому документі, наведена виключно з метою опису конкретних варіантів реалізації і не призначена для обмеження.

55 [0061] Якщо представлено діапазон величин, слід розуміти, що кожне проміжне значення до десятої частини одиниці нижньої межі діапазону, якщо з контексту явно не слідує інше, між верхньою та нижньою межею цього інтервалу і будь-яке інше задане або проміжне значення в цьому заданому інтервалі знаходяться в рамках винаходу. Верхня та нижня межа цих менших інтервалів може незалежно бути включена в менші інтервали і також знаходитися в рамках винаходу, крім будь-якої спеціально виключеної межі в заданому інтервалі. Якщо заданий інтервал включає одну або обидві межі, то інтервали без однієї або обох меж також включено у
60 винахід. Якщо не вказано інше, всі технічні і наукові терміни, які використовуються в цьому

документі, мають те ж значення, яке зазвичай розуміється фахівцем у цій галузі техніки, до якої належить цей винахід.

[0062] Слід зазначити, що при використанні в цьому документі та формулі винаходу, яка додається, форми однини включають посилання на множину, якщо з контексту, вочевидь, не слідує інше. Так, наприклад, згадування "комплексу" включає згадування одного або більше комплексів, і так далі. Додатково слід зазначити, що може бути складений план формули винаходу, який виключає будь-який необов'язковий елемент. У зв'язку з цим передбачається, що це твердження слугує в якості попередньої основи для таких виключних термінів, як "виключно", "тільки" і тому подібних у зв'язку з перерахуванням елементів формули винаходу, або для використання "негативних" обмежень.

[0063] Публікації, які обговорюються в цій заявці, наведені виключно для їх опису до дати подання цієї заявки. Ніяку інформацію в цій заявці не слід тлумачити як визнання того, що цей винахід не має права датувати подібну публікацію більш раннім числом через дію попереднього винаходу. Більш того, дані наданих публікацій можуть відрізнятися від фактично опублікованих даних, що може потребувати незалежного підтвердження.

Визначення

[0064] Терміни "поліпептид", "пептид" і "білок", які використовуються в цьому документі взаємозаміно, належать до полімерної форми амінокислот будь-якої довжини, яка може включати в себе амінокислоти, які генетично кодуються та не генетично кодуються, хімічно або біохімічно модифіковані або похідні амінокислот і поліпептидів, які мають модифіковану первинну структуру білка. Терміни включають гібридні білки, включаючи, але не обмежуючись ними, гібридні білки з гетерологічною амінокислотою послідовністю, гібридні білки з гетерологічними та гомологічними лідерними послідовностями, з N-кінцевими залишками метіоніну або без них; білки мічені імунологічно; тощо. У конкретних варіантах реалізації винаходу, терміни відносяться до амінокислотної полімерної форми будь-якої довжини, яка містить генетично кодуємі амінокислоти. У конкретних варіантах реалізації винаходу, терміни відносяться до амінокислотної полімерної форми будь-якої довжини, яка містить амінокислоти, які генетично кодуються, злиті з гетерологічною амінокислотою послідовністю. У конкретних варіантах реалізації винаходу, терміни відносяться до амінокислоти довжиною 98-112 амінокислот, яку необов'язково зліто з гетерологічною послідовністю. У конкретних варіантах реалізації винаходу, по мірі необхідності при згадуванні білків і молекул, які описано в цьому документі, терміни "поліпептид", "пептид" і "білок" відносяться до поліпептидів, як визначено в цьому документі.

[0065] Термін "комплекс", який використовується в цьому документі, відноситься до білкового комплексу, який містить щонайменше два поліпептиди, кожен з поліпептидів містить N-кінець та C-кінець. Щонайменше два поліпептиди можуть бути пов'язані один з одним через одну або обидві ковалентні та нековалентні взаємодії (наприклад, електростатичну, π-ефекти, Ван-дер-ваальсові сили і гідрофобні ефекти). Щонайменше два поліпептиди можуть бути однаковими, тобто мають ідентичну амінокислотну послідовність, або можуть бути різними, тобто не мають ідентичних амінокислотних послідовностей. Комплекс, який має два поліпептиди при тому, що обидва поліпептиди ідентичні, називають гомодимер. Комплекс, який має два поліпептиди, при тому, що поліпептиди відрізняються, називають гетеродимер. Комплекс, який має три поліпептиди, при тому, що три поліпептиди ідентичні, називають гомотример. Комплекс, який має три поліпептиди, при тому, що щонайменше один з трьох поліпептидів відрізняється від іншого поліпептиду(ів), називають гетеротример. Комплекс, який має чотири поліпептиди, де чотири поліпептиди ідентичні, називають гомотетрамер. Комплекс, який має чотири поліпептиди, при тому, що щонайменше один з чотирьох поліпептидів відрізняється від іншого поліпептиду(ів), називають гетеротетрамер. Ілюстративний комплекс з чотирьох поліпептидів - двох молекул першого поліпептиду і двох молекул другого поліпептиду, де перший поліпептид димеризується з другим поліпептидом формуючи гетеродимер, і де два таких гетеродимера димеризуються формуючи комплекс який називають гомодимерний комплекс з двох гетеродимерів.

[0066] Цей опис передбачає комплекси як визначено вище, включаючи, але не обмежуючись зазначеним далі, гетеродимер, який має перший поліпептид, зв'язаний з другим поліпептидом, де перший поліпептид являє собою "виступ" Fc і другий поліпептид являє собою "западину" Fc, і де, або перший поліпептид, або другий поліпептид злиті з амінокислотою послідовністю GDF15 (або мутеїном GDF15, таким як, мутеїн GDF15, який описано в цьому документі). Перший і другий поліпептиди можуть бути фізично пов'язані один з одним за допомогою нековалентних взаємодій (наприклад, гідрофобних ефектів, таких як, гідрофобні взаємодії між ділянками виступу і западини Fc), ковалентного зв'язку (наприклад, дисульфідного зв'язку, такий як, один

або два дисульфідні зв'язки між ділянкою шарніра Fc в першому і другому поліпептиді), або і того й іншого.

[0067] Цей опис передбачає комплекс, який містить два гетеродимера, пов'язаних один з одним, кожен гетеродимер, який має перший поліпептид і другий поліпептид, де перший поліпептид являє собою "виступ" Fc і другий поліпептид являє собою "западину" Fc, і де, або перший поліпептид, або другий поліпептид злито з амінокислотною послідовністю GDF15 (або мутеїном GDF15). Всередині комплексу, два гетеродимера можуть бути фізично пов'язані за допомогою нековалентних взаємодій (наприклад, гідрофобних ефектів), ковалентного зв'язку (наприклад, дисульфідного зв'язку), або і того й іншого. Перший і другий поліпептиди в кожному з гетеродимерів у комплексі можуть бути фізично пов'язані один з одним за допомогою нековалентних взаємодій (наприклад, гідрофобних ефектів), ковалентного зв'язку (наприклад, дисульфідного зв'язку), або і того й іншого.

[0068] Цей опис передбачає комплекс, який містить два гетеродимера, пов'язаних один з одним, кожен гетеродимер, який має перший поліпептид і другий поліпептид, де перший поліпептид являє собою "виступ" Fc і другий поліпептид являє собою "западину" Fc, і де, або перший поліпептид, або другий поліпептид злито з амінокислотною послідовністю GDF15 (або мутеїном GDF15). Всередині комплексу, два гетеродимера можуть бути фізично пов'язані за допомогою нековалентних взаємодій (наприклад, гідрофобних ефектів) або ковалентних взаємодій (наприклад, дисульфідного зв'язку(iv)) між GDF15 поліпептидами і перший і другий поліпептиди в кожному з гетеродимерів можуть бути фізично пов'язані один з одним за допомогою нековалентних взаємодій (наприклад, виступ-у-западину), ковалентного зв'язку (наприклад, дисульфідного зв'язку), або і того й іншого.

[0069] Терміни "пацієнт" або "суб'єкт" використовуються як взаємозамінні для позначення людини або тварини, яка не є людиною (наприклад, ссавця).

[0070] Терміни "лікувати", "лікування" і т. п. відносяться до порядку дій (наприклад, введенню агента, наприклад, поліпептиду, комплексу, або фармацевтичної композиції, яка містить поліпептид, комплекс), який починають після діагностики, виявлення і т.п. захворювання, розладу або стану або їх симптомів з метою усунення, зменшення, пригнічення або полегшення, тимчасового або постійного, щонайменше однієї з основних причин захворювання, розладу або стану, від якого страждає суб'єкт, або щонайменше одного з симптомів асоційованих із захворюванням, розладом або станом, від якого страждає суб'єкт. Таким чином, лікування включає пригнічення (тобто припинення розвитку або подальшого розвитку захворювання, розладу або стану або клінічних симптомів, асоційованих з ними) активного захворювання (наприклад, з метою зменшення рівня інсуліну і/або глюкози в кровотоці, підвищення сприйнятливості глюкози з метою мінімізації коливань рівня глюкози і/або захисту від захворювань, які викликані роз'єднанням гомеостазу глюкози, зменшенням маси тіла, затримкою збільшення маси тіла).

[0071] Термін "потребує лікування", який використовується в цьому контексті, відноситься до рішення, яке зробив лікар або інша особа, яка доглядає за пацієнтом, про те, що пацієнт має потребу в лікуванні або таке лікування піде йому на користь. Це рішення приймається на основі цілого ряду факторів, які знаходяться у сфері компетенції лікаря або особи, яка доглядає за пацієнтом.

[0072] Терміни "запобігати", "запобігання", "профілактика" і т. п. відносяться до порядку дій (такого як введення агента, наприклад, поліпептиду, комплексу, або фармацевтичної композиції, яка містить поліпептид, комплекс), який починають таким чином (наприклад, до прояву захворювання, розладу або стану або їх симптому) з метою запобігання, пригнічення, інгібування або зменшення, тимчасового або постійного, ризику розвитку захворювання, розладу або стану і т. п. (наприклад, на основі відсутності клінічних симптомів) у суб'єкта або затримки їх прояву, головним чином у суб'єкта, схильного до конкретного захворювання, розладу або стану. У деяких випадках терміни також відносяться до уповільнення прогресування захворювання, розлади або стану або інгібування прогресування шкідливого або іншого небажаного стану.

[0073] Термін "потребує запобігання", який використовується в цьому контексті, відноситься до рішення, зробленого лікарем або іншою особою, яка доглядає за пацієнтом, про те, що пацієнт має необхідність у профілактичному догляді або такий профілактичний догляд піде йому на користь. Це рішення приймається на основі цілого ряду факторів, які знаходяться у сфері компетенції лікаря або особи, яка доглядає за пацієнтом.

[0074] Фраза "терапевтично ефективна кількість" відноситься до введення агента суб'єкту окремо або в складі фармацевтичної композиції, одноразово або в рамках серії доз, у кількості, здатній чинити позитивний вплив, який можна виявити, на будь-який симптом, аспект або

характеристики захворювання, розладу або стан при введенні пацієнту. Терапевтично ефективну кількість можна встановити шляхом вимірювання відповідних фізіологічних ефектів. Наприклад, у разі гіперглікемічного стану, зниження або зменшення рівня глюкози в крові або поліпшення тесту сприйнятливості глюкози можна використовувати для визначення ефективності лікування гіперглікемічного стану за рахунок вказаної кількості агента. Наприклад, терапевтично ефективна кількість являє собою кількість, достатню для зниження або зменшення рівня (наприклад, початкового рівня) глюкози в плазмі натще (FPG), причому, наприклад, зазначена кількість є достатньою для зменшення рівня FPG з більше ніж 200 мг/дл до менше ніж 200 мг/дл, причому зазначена кількість є достатньою для зменшення рівня FPG з 175-200 мг/дл до менше ніж початковий рівень, причому зазначена кількість є достатньою для зменшення рівня FPG з 150-175 мг/дл до менше ніж початковий рівень, причому зазначена кількість є достатньою для зменшення рівня FPG з 125-150 мг/дл до менше ніж початковий рівень і т.д. (наприклад, зменшення рівня FPG до менше ніж 125 мг/дл, менше ніж 120 мг/дл, менше 115 ніж мг/дл, менше 110 ніж мг/дл і т.д.). У разі рівня HbA1c ефективна кількість являє собою кількість, достатню для зниження або зменшення рівня на більш ніж близько 10 % до 9 %, на більш ніж близько 9 % до 8 %, на більш ніж близько 8 % до 7 %, більш ніж близько 7 % до 6 %, на більш ніж близько 6 % до 5 % і т. д. Зокрема, зниження або зменшення рівнів HbA1c на близько 0,1 %, 0,25 %, 0,4 %, 0,5 %, 0,6 %, 0,7 %, 0,8 %, 0,9 %, 1 %, 1,5 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 33 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 % або більше розглядається в цьому описі. Терапевтично ефективна кількість може бути скорегована в залежності від схеми введення, діагностичного аналізу стану суб'єкта і т. п.

[0075] Фраза "в кількості, достатній, щоб викликати зміну" означає, що існує різниця, яку детектують, між рівнем показника, виміряного перед (наприклад, базовий рівень) і після прийому певної терапії. Показники включають будь-який об'єктивний параметр (наприклад, рівень глюкози або інсуліну, або споживання їжі, або маси тіла) або суб'єктивний параметр (наприклад, гарне самопочуття або апетит суб'єкта).

[0076] Фраза "сприйнятливості глюкози", яка використовується в цьому документі, відноситься до здатності суб'єкта контролювати рівень глюкози в плазмі і/або інсуліну в плазмі при коливаннях споживання глюкози. Наприклад, сприйнятливості глюкози охоплює здатність знижувати протягом близько 120 хвилин рівень глюкози в плазмі у суб'єкту назад до рівня, визначеного до споживання глюкози.

[0077] Терміни "діабет" і "діабетичний" відносяться до прогресуючого захворювання, пов'язаного з метаболізмом вуглеводів, яке включає недостатню продукцію або утилізацію інсуліну, яке часто характеризується гіперглікемією і глюкозурією. Терміни "переддіабет" і "переддіабетичний" відносяться до стану, при якому у суб'єкта немає характерних ознак, симптомів і т. п., які зазвичай спостерігаються при діабеті, але є характерні ознаки, симптоми і т. п., які при відсутності лікування можуть прогресувати до діабету. Наявність цих станів можна визначити з допомогою, наприклад, аналізу глюкози в плазмі натще (FPG) або тесту на пероральну сприйнятливості глюкози (OGTT). Обидва ці аналізу вимагають, щоб суб'єкт не приймав їжу протягом щонайменше 8 годин до початку аналізу. При аналізі FPG рівень глюкози в крові суб'єкту вимірюють після голодування; як правило, суб'єкт не приймає їжу протягом ночі, а глюкозу в крові вимірюють вранці, до того як суб'єкт поїсть. У здорового суб'єкту, як правило, концентрація FPG становить від близько 90 до близько 100 мг/дл, у суб'єкту з "переддіабетом", як правило, концентрація FPG становить від близько 100 до близько 125 мг/дл, і у суб'єкта з "діабетом", як правило, рівень FPG перевищує близько 126 мг/дл. При OGTT глюкозу в крові суб'єкта вимірюють після голодування і повторно через дві години після прийому напою, збагаченого глюкозою. Через дві години після прийому напою, збагаченого глюкозою, концентрація глюкози в крові здорового суб'єкту, як правило, становить менш ніж близько 140 мг/дл, концентрація глюкози в крові суб'єкта з переддіабетом, як правило, становить від близько 140 до близько 199 мг/дл, а концентрація глюкози в крові суб'єкту з діабетом, як правило, становить близько 200 мг/дл або більше. У той час як вищезгадані значення глікемії відносяться до суб'єктам-людям, у суб'єктів-мишей нормоглікемію, помірну гіперглікемію та виражену гіперглікемію визначають по-іншому. У здорового суб'єкту-миші після чотиригодинного голодування, як правило, концентрація FPG становить від близько 100 до близько 150 мг/дл, у суб'єкту-миші з "переддіабетом", як правило, концентрація FPG становить від близько 175 до близько 250 мг/дл, і у суб'єкту-миші з "діабетом", як правило, концентрація FPG вище близько 250 мг/дл.

[0078] Термін "інсулінрезистентність", який використовується в цьому документі, відноситься до стану, коли нормальна кількість інсуліну не може призвести до нормальної фізіологічної або молекулярної реакції. У деяких випадках гіперфізіологічна кількість інсуліну, яка ендогенно

продукується або екзогенно введена, може повністю або частково подолати інсулінрезистентність і запустити біологічну відповідь.

[0079] Термін "метаболічний синдром" відноситься до взаємопов'язаного кластеру ознак, який включає, але не обмежується ними, гіперінсулінемію, аномальну толерантність до глюкози, ожиріння, перерозподіл жиру в черевну порожнину або верхню частину тіла, гіпертензію, дисліпідію та дисліпідію, яка характеризується високим рівнем тригліцеридів, низький рівень ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ)-холестерину і високим рівнем часток ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ). Суб'єкти з метаболічним синдромом схильні до ризику розвитку діабету 2 типу і/або інших розладів (наприклад, атеросклерозу).

[0080] Фраза "порушення метаболізму глюкози" охоплює будь-який розлад, який характеризується клінічним симптомом або комбінацією клінічних симптомів, пов'язаними з підвищеним рівнем глюкози і/або підвищеним рівнем інсуліну у суб'єкту порівняно зі здоровим індивідом. Підвищені рівні глюкози і/або інсуліну можуть проявлятися при наступних захворюваннях, розладах і станах: гіперглікемії, цукровому діабеті II типу, гестаційному діабеті, цукровому діабеті I типу, інсулінрезистентності, порушенні сприйнятливості глюкози, гіперінсулінемії, порушення метаболізму глюкози, переддіабеті, інших метаболічних розладах (наприклад, метаболічному синдромі, який називають також синдромом X) і ожирінні зокрема. Комплекси згідно цього опису і їх композиції можна застосовувати, наприклад, для досягнення і/або підтримання гомеостазу глюкози, наприклад, для зменшення рівня глюкози в кровотоці і/або зменшення рівня інсуліну до діапазону, характерного для здорового суб'єкта.

[0081] Термін "гіперглікемія", як використовується в цьому документі, відноситься до стану, при якому в плазмі крові суб'єкта циркулює підвищена кількість глюкози порівняно зі здоровим індивідом. Гіперглікемію можна діагностувати, використовуючи способи, відомі в цій галузі техніки, включаючи вимірювання рівнів глюкози в крові натще, як описано в цьому документі.

[0082] Термін "гіперінсулінемія", як використовується в цьому документі, відноситься до стану, при якому підвищені рівні циркулюючого інсуліну при супутніх підвищених або нормальних рівнях глюкози в крові. Гіперінсулінемія може бути викликана інсулінрезистентністю, яка асоційована з дисліпідією, такою як високий рівень тригліцеридів, високий рівень холестерину, високий рівень ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) і низький рівень ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ); високі рівні сечової кислоти; синдромом полікістозних яєчників; діабет II типу і ожиріння. Гіперінсулінемію можна діагностувати як рівень інсуліну плазми вищий ніж близько 2 мкЕд/мл.

[0083] Як використовується в цьому документі, фраза "розлад маси тіла" відноситься до станів, асоційованих з надлишковою масою тіла і/або підвищеним апетитом. Для визначення наявності у суб'єкта надлишкової маси тіла у порівнянні з еталонним здоровим індивідом використовують різні параметри, у тому числі вік, зріст, стать і стан здоров'я суб'єкта. Наприклад, можна вважати, що у суб'єкта надмірна вага або ожиріння за оцінкою індексу маси тіла (ІМТ) суб'єкта, який розраховують шляхом ділення маси тіла суб'єкта в кілограмах на квадрат росту суб'єкту в метрах. Вважається, що у дорослого з ІМТ в діапазоні від ~18,5 до ~24,9 кг/м² нормальна вага; у дорослого з ІМТ між ~25 і ~29,9 кг/м² надмірна вага (передожиріння); і можна вважати, що дорослий з ІМТ ~30 кг/м² або вище страждає ожирінням. Підвищений апетит часто сприяє надмірній вазі. Існує кілька станів, асоційованих з підвищеним апетитом, в тому числі, наприклад, синдром нічного харчування, який характеризується ранковою анорексією та вечірньою поліфагією, яка часто асоціюється з безсонням, яка може бути пов'язана з травмою гіпоталамусу.

[0084] Термін "активатори" відноситься до агентів, які, наприклад, стимулюють, підвищують, активують, полегшують, посилюють активацію, сенсibiliзують або індукують функцію або активність одного або більше агентів, наприклад, поліпептидів або комплексу, які використовуються для лікування або профілактики метаболічного розладу. Крім того, активатори включають агенти, які діють за тим же механізмом дії, як і поліпептиди цього винаходу (т. е. агенти, які модулюють той же сигнальний шлях, що і поліпептиди, за способом, аналогічним зазначеним поліпептидам) і здатні викликати біологічну відповідь, порівнювану з (або перевищуючий) такою поліпептидів. Приклади активаторів включають агоністи, такі як низькомолекулярні сполуки.

[0085] Термін "Модулятори" спільно відноситься до поліпептидів цього винаходу і Активаторам.

[0086] Терміни "модулювати", "модуляція" і т. п. відносяться до здатності агенту (наприклад, активатора) прямо або побічно підсилювати функцію або активність одного або більше з поліпептидів (або молекул нуклеїнових кислот, які кодують їх); або здатності агента викликати ефект, порівнюваний з ефектом одного або більше поліпептидів.

[0087] Слід брати до уваги, що на всьому протязі цього опису посилання надається на амінокислоти у відповідності з однопітерним або трилітерним кодом. Для зручності читача, однопітерні та трилітерні коди амінокислот наведено нижче:

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

5

[0088] Як використовується в цьому документі, термін "варіант" охоплює варіанти природного походження (наприклад, гомологи та алельні варіанти) і варіанти не природного походження (наприклад, рекомбінантно-модифіковані). Варіанти природного походження включають гомологи, тобто, нуклеїнові кислоти і поліпептиди, які відрізняються по нуклеотидній або амінокислотній послідовності, відповідно, від одного виду до іншого. Варіанти природного походження включають алельні варіанти, тобто, нуклеїнові кислоти і поліпептиди, які відрізняються по нуклеотидній або амінокислотній послідовності, відповідно, від одного індивідуума до іншого в межах одного виду. Варіанти не природного походження містять нуклеїнові кислоти і поліпептиди, які містять зміни в нуклеотидній або амінокислотній послідовності, відповідно, де зміну в послідовності внесено штучно, наприклад, зміну отримано в лабораторії або іншому закладі за рахунок людського втручання ("людськими руками").

10

15

[0089] Термін "нативний" або "дикого типу" по відношенню до GDF15 відноситься до біологічно активного природного GDF15, в тому числі, біологічно активним природним варіантам GDF15. Цей термін включає послідовність зрілого GDF15 людини довжиною 112 амінокислот (SEQ ID NO:1).

20

[0090] Термін "мутеїни", як використовується в цьому документі, в широкому сенсі відноситься до рекомбінантних білків, тобто поліпептиду, який містить штучно введену зміну в амінокислотній послідовності, наприклад, зміну в амінокислотній послідовності, отриману в лабораторії або іншому закладі за рахунок людського втручання ("людськими руками"). Ці поліпептиди зазвичай несуть одну або кілька амінокислотних замін або делецій і часто отримані від клонованих генів, які були піддані сайт-спрямованому або випадковому мутагенезу, або з повністю синтетичних генів. "Мутеїни GDF15" цього опису, таким чином, охоплюють, наприклад, амінокислотні заміни і/або амінокислотні делеції (наприклад, укорочення з N-кінця на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 або 14 або більше амінокислот) у порівнянні з еталонним поліпептидом, наприклад, у порівнянні з природним/диким типом зрілого GDF15 людини (SEQ ID NO:1).

25

30

[0091] Як використовується в цьому документі терміни "модифікований", "модифікація" і т. д. по відношенню до нативного GDF15 людини або мутеїну GDF15 відносяться до однієї або більше змін, які змінюють властивості GDF15 людини, варіанту GDF15 природного походження або мутеїна GDF15, де зміни не змінюють саму первинну амінокислотну послідовність поліпептиду GDF15 (нативного або мутеїна). Така властивість включає, наприклад, розчинність, період напівжиття в кровотоці, стабільність, кліренс, імуногенність або алергенність і технологічність (наприклад, вартість та ефективність). "Модифікація" включає ковалентну хімічну модифікацію, яка не впливає на саму первинну амінокислотну послідовність поліпептиду GDF15 (нативного або мутеїна). Зміни GDF15 людини, варіанта GDF15 природного походження або мутеїна GDF15, які можуть бути виконані, включають, але не обмежуючись зазначеним далі, пегілювання (ковалентне приєднання однієї або більше молекул поліетиленгліколю (ПЕГ) або їх похідних); глікозилювання (наприклад, N-глікозилювання), полісіалювання та приєднання ГЕК; злиття з мальтозо-зв'язуючим білком; злиття з альбуміном (наприклад, злиття з ЛСА); зв'язування з альбуміном через, наприклад, кон'югований ланцюг жирної кислоти (ацилювання); Fc-злиття; і злиття з міметиком ПЕГ. Деякі конкретні варіанти реалізації винаходу призводять до модифікацій, які включають в себе злиття з Fc, а інші конкретні модифікації приводять до модифікацій, які включають в себе глікозилювання або їх комбінації.

35

40

45

[0092] Терміни "ДНК", "нуклеїнова кислота", "молекула нуклеїнової кислоти", "полінуклеотид" і т. п. використовуються в цьому документі взаємозамінно по відношенню до полімерної форми нуклеотидів будь-якої довжини, або дезоксирибонуклеотидів або рибонуклеотидів, або їх аналогів. Не обмежують приклади включають лінійні та циклічні нуклеїнові кислоти, матричну РНК (мРНК), комплементарну ДНК (кДНК), рекомбінантні полінуклеотиди, вектори, зонди, праймери і тому подібне.

[0093] Термін "зонд" відноситься до фрагмента ДНК або РНК, який відповідає гену або послідовності, яка цікавить, причому фрагмент позначено радіоактивною міткою (наприклад, шляхом включення ^{32}P або ^{35}S) або деякою іншою молекулою, яку можна виявити, такою як біотин, дигоксигенін або флуоресцеїн. Оскільки ділянки ДНК або РНК з комплементарними послідовностями повинні гібридизуватися, зонд можна застосовувати, наприклад, для мічення вірусних бляшок, бактеріальних колоній або смуг на гелі, який містить ген, що цікавить. Зонд може представляти собою клоновану ДНК або синтетичний ланцюг ДНК; останній варіант можна використовувати для отримання кДНК або геномного клону з виділеного білка, наприклад, виконавши мікросеквенування частини білка, отримавши нуклеотидну послідовність, яка кодує білок, синтезувавши олігонуклеотид, який несе цю послідовність, позначивши послідовність радіоактивною міткою і використовуючи її в якості зонда для скринінгу бібліотеки кДНК або геномної бібліотеки.

[0094] Термін "гетерологічний" відноситься до двох компонентів, які визначаються структурами, отриманими з різних джерел. Наприклад, в контексті поліпептиду, "гетерологічний" поліпептид може містити функціонально пов'язані амінокислотні послідовності, отримані від різних поліпептидів (наприклад, перший компонент, який містить рекомбінантний поліпептид, і другий компонент, отриманий від нативного поліпептиду GDF15). Аналогічним чином, в контексті полінуклеотида, який кодує химерний поліпептид, "гетерологічний" полінуклеотид може містити функціонально пов'язані нуклеотидні послідовності, отримані від різних генів (наприклад, перший компонент з нуклеїнової кислоти, яка кодує рекомбінантний поліпептид згідно варіанту реалізації винаходу, який описано в цьому документі, і другий компонент з нуклеїнової кислоти, яка кодує поліпептид-носіє). Інші типи "гетерологічні" нуклеїнові кислоти включають конструкти, які експресують, в яких нуклеїнова кислота, яка містить кодуєчу послідовність, функціонально пов'язана з регуляторним елементом (наприклад, промотором), генетичне походження якого відрізняється від походження кодуєчої послідовності (наприклад, з метою забезпечити експресію в досліджуваній клітині-хазяїні, генетичне походження якої може відрізнятися від походження промотора, кодуєчої послідовності, або як промотора, так і кодуєчої послідовності). Наприклад, промотор T7, функціонально пов'язаний з полінуклеотидом, який кодує поліпептид GDF15 або його домен, називають гетерологічною нуклеїновою кислотою. В контексті рекомбінантних клітин термін "гетерологічний" може відноситися до наявності нуклеїнової кислоти (або продукту гена, наприклад, поліпептиду), генетичне походження якої відрізняється від клітини-хазяїна, в якій вона присутня.

[0095] Термін "функціонально пов'язаний" відноситься до зв'язку між молекулами, що забезпечує бажану функцію. Наприклад, "функціонально пов'язані" в контексті нуклеїнових кислот відноситься до функціонального зв'язку між нуклеотидними послідовностями. Наприклад, послідовність, яка контролює експресію нуклеїнової кислоти (наприклад, промотор, сигнальна послідовність або сукупність сайтів зв'язування факторів транскрипції), може бути функціонально пов'язана з другим полінуклеотидом, причому зазначена послідовність, яка контролює експресію, впливає на транскрипцію і/або трансляцію другого полінуклеотида. В контексті поліпептиду термін "функціонально пов'язані" відноситься до функціонального зв'язку між амінокислотними послідовностями (наприклад, різними доменами), що забезпечує описану активність поліпептиду.

[0096] Як використовується в цьому документі, в контексті структури поліпептиду, "N-кінець" (або "аміно-кінець") і "C-кінець" (або "карбоксильний кінець") відносяться до крайніх аміно- та карбоксильним кінцям поліпептиду, відповідно, у той час як терміни "N-кінцевий" та "C-кінцевий" відносяться до відносних положень в амінокислотній послідовності поліпептида у напрямку до N - та C-кінця, відповідно, і можуть містити залишки на N - та C-кінці, відповідно. "Безпосередньо N-кінцевий" або "безпосередньо C-кінцевий" відноситься до положення першого амінокислотного залишку відносно до другого амінокислотного залишку, де перший і другий амінокислотні залишки ковалентно пов'язані для забезпечення безперервної амінокислотної послідовності.

[0097] Термін "яка походить від" в контексті амінокислотної послідовності або полінуклеотидної послідовності (наприклад, амінокислотна послідовність, "яка походить від" поліпептиду GDF15), призначений для позначення того, що поліпептид або нуклеїнова кислота

містять послідовність, основу на послідовності еталонного поліпептиду або нуклеїнової кислоти (наприклад, поліпептидна GDF15 природного походження або нуклеїнової кислоти, яка кодує GDF15), і не призначений для обмеження джерела або способу, за допомогою якого отримано білок або нуклеїнова кислота. Наприклад, термін "яка походить від" включає гомологи

або варіанти еталонних амінокислотних послідовностей або послідовностей ДНК.
[0098] В контексті поліпептиду термін "виділений" відноситься до поліпептиду, який представляє інтерес, який, якщо він зустрічається в природі, знаходиться в середовищі, яке відрізняється від середовища, в якому він може зустрічатися в природних умовах. "Виділений" передбачає поліпептиди, які знаходяться в зразках, суттєво збагачених для поліпептидом, який представляє інтерес, і/або в яких поліпептид, який цікавить, є частково або значно очищеним. Якщо поліпептид не зустрічається в природних умовах, "виділений" означає, що поліпептид відокремили від середовища, в якому він був отриманий, з використанням синтетичних або рекомбінантних способів.

[0099] "Збагачений" значить, що зразок піддавали штучним маніпуляціям (наприклад, в лабораторії, наприклад, вчений або клініцист), так що досліджуваний поліпептид присутній у а) підвищеній концентрації (наприклад, щонайменше в 3 рази перевищує, щонайменше в 4 рази перевищує, щонайменше в 8 раз перевищує, щонайменше в 64 рази перевищує або більше) порівняно з концентрацією поліпептиду в початковому зразку, наприклад, біологічному зразку (наприклад, зразку, в якому поліпептид зустрічається в природних умовах або в якому він присутній після введення), або b) концентрації, якщо перевищує концентрацію в середовищі, в якому вказаний поліпептид був отриманий (наприклад, у бактеріальній клітині).

[00100] "В основному чистий" значить, що компонент (наприклад, поліпептид, димер, тетрамер, комплекс) складає більш ніж близько 50 % від загального вмісту композиції, і, як правило, більш ніж близько 60 % від загального вмісту поліпептиду. Більш типово, "в основному чистий" відноситься до композицій, в яких щонайменше 75 %, щонайменше 85 %, щонайменше 90 % або більше від загальної композиції становить компонент, який представляє інтерес. У деяких випадках, компонент буде становити більше ніж близько 90 %, або більш ніж близько 95 % від загального вмісту композиції.

[00101] Терміни "антитіла" (At) та "імуноглобуліни" (Ig) відносяться до глікопротеїнів, які мають однакові структурні характеристики. У той час як антитіла демонструють специфічність зв'язування з конкретними антигенами, імуноглобуліни включають як антитіла, так і інші антитілоподібні молекули, які не мають специфічності до антигену. Антитіла докладно описані далі в цьому документі.

[00102] Термін "моноклональне антитіло" відноситься до антитіла, яке отримано з популяції практично однорідних антитіл, тобто окремі антитіла, які складають популяцію, є ідентичними, за винятком можливих природних мутацій, які можуть бути присутні в незначних кількостях. Моноклональні антитіла є високоспецифічними і спрямовані проти єдиного антигенного сайту. На відміну від препаратів поліклональних антитіл, які можуть містити різні антитіла проти різних детермінант (епітопів), кожне моноклональне антитіло спрямоване проти єдиної детермінанти антигену.

[00103] У контексті антитіла термін "виділене" відноситься до антитіла, відокремленого і/або очищеного від забруднюючих компонентів природного середовища; такі забруднюючі компоненти включають матеріали, які можуть заважати діагностичному або терапевтичному застосуванню антитіла, і можуть включати ферменти, гормони і інші, білкові або небілкові розчинені речовини.

[00104] Фраза "консервативна амінокислотна заміна" відноситься до заміни амінокислотних залишків у наступних групах: 1) L, I, M, V, F; 2) R, K; 3) F, Y, H, W, R; 4) G, A, T, S; 5) Q, N; і 6) D, E. Консервативні амінокислотні заміни можуть зберігати активність білка шляхом заміни амінокислоти (амінокислот) у білку на амінокислоту з бічним ланцюгом аналогічної кислотності, основності, заряду, полярності або розміру бічного ланцюга. Керівництво з заміни, інсерції або делеції може бути засноване на вирівнюванні амінокислотних послідовностей різних варіантів білків або білків з різних видів.

Фактор диференціації росту 15 (GDF15)

[00105] GDF15, також відомий як MIC-1 (інгібіторний цитокін макрофагів-1), PDF (фактор диференціації передміхурової залози), PLAB (плацентарний кістковий морфогенетичний білок), NAG-1 (ген, який активується нестероїдними протизапальними препаратами (НПЗП)), TFP-PL і PTGFB, є членом надродини трансформуючого фактора росту β (TFP- β). GDF15, який синтезується у вигляді внутрішньоклітинного білка-попередника вагою 62 кДа, який потім розщеплюється фурином-подібною протеазою, секретується у вигляді дисульфід-зв'язаного білка вагою 25 кДа. (Див., наприклад, Fairlie et al., J. Leukoc. Biol. 65:2-5 (1999)). mPHK GDF15

зустрічається в декількох тканинах, включаючи печінку, нирки, підшлункову залозу, товсту кишку і плаценту, і експресія GDF15 в печінці може в значній мірі посилюватися при пошкодженні таких органів, як печінка, нирки, серце та легені.

[00106] Попередником GDF15 є 308-амінокислотний поліпептид (NCBI Ref.Seq.NP_004855.2), який містить 29-амінокислотний сигнальний пептид, 167-амінокислотний продомен та зрілий домен довжиною 112 амінокислот, який вирізають з продомену фуриноподібними протеазами. 308-амінокислотний поліпептид GDF15 називають "повнорозмірним" поліпептидом GDF15; 112-амінокислотний поліпептид GDF15 (амінокислоти 197-308 "повнорозмірного" GDF15) являє собою "зрілий" поліпептид GDF15 (SEQ ID NO:1). Якщо не зазначено інше, термін "GDF15" відноситься до зрілої послідовності людини довжиною 112 амінокислот. Крім того, чисельні згадки конкретних залишків GDF15 відносяться до зрілої послідовності довжиною 112 амінокислот (тобто залишок 1 являє собою Ala (A), а залишок 112 являє собою Ile (I); див. SEQ ID NO:1). Слід зазначити, що хоча амінокислотна послідовність попередника GDF15 дозволяє передбачити три сайти вирізування, що призводить до трьох гіпотетичних форм "зрілого" GDF15 людини (тобто, 110, 112 і 115 амінокислот), 112-амінокислотна зріла послідовність прийнята за правильний варіант.

[00107] Обсяг цього опису включає ортологи GDF15 і їх модифіковані форми, отримані з інших видів ссавців, включаючи мишу (NP_035949), шимпанзе (XP_524157), орангутанга (XP_002828972), макаку-резус (EHH29815), гігантську панду (XP_002912774), гібона (XP_003275874), морську свинку (XP_003465238), тхора (AER98997), корову (NP_001193227), свиню (NP_001167527), собаку (XP_541938) і качкодзьоба (*Ornithorhynchus anatinus*; AFW61279). Зріла форма GDF15 людини має близько 67 % ідентичності амінокислотній послідовності з ортологом миші.

[00108] Заради зручності, модифіковані молекули GDF15 людини, варіанти GDF15 (наприклад, мутеїни) і модифіковані GDF15 мутеїни, які описано в подальшому, спільно згадуються далі як "поліпептид(и)". Слід зазначити, що будь-яке згадування "людини" у зв'язку з поліпептидами і молекулами нуклеїнових кислот згідно цього винаходу не означає обмеження щодо способу або джерела отримання зазначеного поліпептиду або нуклеїнової кислоти, а лише відноситься до послідовності, оскільки вона може відповідати послідовності природного поліпептиду або молекули нуклеїнової кислоти людини. В конкретних варіантах реалізації винаходу, молекули модифікованого GDF15 людини являють собою N-глікозильовані димери. Крім поліпептидів людини і молекул нуклеїнових кислот, які кодують їх, в цьому описі розглядаються GDF15-споріднені поліпептиди і відповідні молекули нуклеїнових кислот з інших видів.

А. Поліпептиди з бажаними фізичними властивостями

[00109] Цей опис, зокрема, передбачає поліпептиди, які містять безперервну амінокислотну послідовність, яка щонайменше на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1 (зрілий GDF15 людини довжиною 112 амінокислот). Поліпептиди можуть містити одну або більше амінокислотних замінів і/або делецій порівняно з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO:1. У певних варіантах реалізації винаходу, крім амінокислотних замінів, поліпептиди цього опису можуть також містити делеції амінокислот порівняно з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO:1. У деяких варіантах реалізації винаходу, поліпептиди цього опису можуть містити делеції амінокислот порівняно з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO:1.

[00110] Для зручності та зрозумілості, амінокислотну послідовність SEQ ID NO:1 використовують у якості еталонної послідовності для поліпептидів, представлених у цьому документі. Таким чином, положення амінокислот у цьому документі пронумеровані по відношенню до SEQ ID NO:1. Послідовність SEQ ID NO:1 представлено нижче:

[00111]

ARNGDHCHPLGPGRCCLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSL
HRLKPDTVPAPCCVPASYNPMVLIIQKTDGTGVSQTYDDLLAKDCHCI

[00112] У деяких варіантах реалізації винаходу, поліпептиди цього опису можуть включати одну, дві, три або більше амінокислотних замінів, додавання або делеції, які вводять один або більше консенсусний(их) сайт(ів) N-зв'язаного глікозилювання в області, де такий сайт відсутній в SEQ ID NO:1. Консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання містить послідовність NXS/T, де N являє собою Asn; X являє собою амінокислоту, відмінну від проліну, після якої знаходиться Ser (S) або Thr (T).

[00113] Приклади поліпептидів цього опису включають поліпептиди, які мають один, два, три, чотири або більше консенсусних сайтів глікозилювання (наприклад, консенсусних сайтів N-зв'язаного глікозилювання) в амінокислотному положенні, де такий сайт відсутній в

амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1.

[00114] У певних варіантах реалізації поліпептид може містити амінокислотну заміну у порівнянні з SEQ ID NO:1, яка забезпечує утворення одного консенсусного сайту N-зв'язаного глікозилювання в положенні заміщення (наприклад, послідовність NGD в SEQ ID NO:1 можна замінити на NGT/S шляхом однієї заміни; положення заміщення підкреслено). В інших випадках поліпептид може містити дві амінокислотні заміни у порівнянні з SEQ ID NO:1, які забезпечують один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання в положенні заміщення (наприклад, послідовність KTD в SEQ ID NO:1 можна замінити на NTT/S шляхом двох заміни; положення заміщення підкреслено). У деяких варіантах реалізації винаходу, поліпептид може містити три амінокислотні заміни у порівнянні з SEQ ID NO:1 які забезпечують один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання в положенні заміщення (наприклад, послідовність GPG в SEQ ID NO:1 можна замінити на NTT/S шляхом трьох заміни; положення заміщення підкреслено).

[00115] У деяких варіантах реалізації винаходу, поліпептид може містити одну або більше амінокислотну делецію порівняно з SEQ ID NO:1, яка забезпечує утворення одного консенсусного сайту N-зв'язаного глікозилювання в положенні делеції. Наприклад, послідовність NGDHCPLGPGRCCRLHT (SEQ ID NO:119) в SEQ ID NO:1 можна змінити шляхом делеції амінокислот D через H (підкреслені), тим самим забезпечуючи консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання: NGT.

[00116] У деяких варіантах реалізації винаходу, поліпептид може містити додавання однієї або більше амінокислоти в порівнянні з SEQ ID NO:1, які забезпечують утворення одного консенсусного сайту N-зв'язаного глікозилювання в положенні(ях) додавання(нь). Приклад впровадження консенсусного сайту N-зв'язаного глікозилювання шляхом додавання однієї амінокислоти включає додавання N до послідовності LHT в SEQ ID NO:1, тим самим створюючи послідовність LNHT, де NHT являє собою консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання.

[00117] Як зазначено вище, поліпептид може містити одну або більше амінокислотну заміну у порівнянні з SEQ ID NO:1, і заміни можуть бути пронумеровані, як положення відповідної амінокислоти в SEQ ID NO:1.

[00118] У деяких варіантах реалізації винаходу, поліпептид може містити безперервну амінокислотну послідовність, щонайменше на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1, де безперервна амінокислотна послідовність містить заміну D5T/S або R21N.

[00119] У деяких варіантах реалізації винаходу, поліпептид може містити безперервну амінокислотну послідовність, щонайменше на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1, де безперервна амінокислотна послідовність містить щонайменше одну з наступних пар заміни у порівнянні з відповідними амінокислотами в SEQ ID NO:1:

- i. R16N і H18T або R16N і H18S;
- ii. S23N і E25T або S23N і E25S;
- iii. L24N і D26T або L24N і D26S;
- iv. S50N і F52T або S50N і F52S;
- v. F52N і A54T або F52N і A54S;
- vi. Q51N і R53T або Q51N і R53S;
- vii. R53N і A55T або R53N і A55S;
- viii. S64N і H66T або S64N і H66S;
- ix. L65N і R67T або L65N і R67S;
- x. S82N і N84T або S82N і N84S;
- xi. K91N і D93T або K91N і D93S;
- xii. D93N і G95T або D93N і G95S;
- xiii. T94N і V96T або T94N і V96S;
- xiv. V96N і L98T або V96N і L98S;
- xv. S97N і Q99T або S97N і Q99S; і
- xvi. A106N і D108T або A106N і D108S

[00120] Наприклад, заміни, які представлено вище в i), означають, що поліпептид містить треонін (T) або серин (S) в амінокислотному положенні, яке відповідає амінокислотному положенню 18 в SEQ ID NO:1, причому в SEQ ID NO:1 гістидин (H) присутній в амінокислотному положенні 18. Аналогічним чином, заміну D в положенні 5 на T або S можна позначити як D5T/S. Положення відповідної амінокислоти в поліпептиді порівняно з SEQ ID NO:1 можна визначити шляхом вирівнювання амінокислотних послідовностей.

[00121] У певних варіантах реалізації винаходу, поліпептид може містити дві амінокислотні заміни (пару заміни), які забезпечують одну консенсусну послідовність N-глікозилювання в

положенні, де консенсусна послідовність N-глікозилювання відсутня в SEQ ID NO:1. Приклади таких заміन включають R16N і H18T/S; K91N і D93T/S; T94N і V96T/S; та інші, які перераховано вище. R16N і H18T/S означає, що поліпептид містить N у положенні, яке відповідає положенню 16 в SEQ ID NO:1, де в SEQ ID NO:1 присутній R і поліпептид містить або T або S у положенні, яке відповідає положенню 18 в SEQ ID NO:1, де присутній H. Оскільки послідовність RXH (у положеннях 16-18) в SEQ ID NO:1 не містить залишків консенсусної послідовності N-зв'язаного глікозилювання, пара заміन призводить до впровадження консенсусної послідовності N-зв'язаного глікозилювання.

[00122] В альтернативних варіантах реалізації винаходу, окремої амінокислотної заміни може бути достатньо для забезпечення консенсусної послідовності N-зв'язаного глікозилювання, наприклад, оскільки послідовність NGD (в положенні 3-5) присутня в SEQ ID NO:1, єдина заміна D на T або S призводить до утворення послідовності NGT або NGS, відповідно, які представляють собою консенсусні послідовності N-глікозилювання.

[00123] У деяких випадках у GDF15 дикого типу можна впровадити більше однієї консенсусної послідовності N-глікозилювання. Наприклад, амінокислотну послідовність GDF15 дикого типу можна модифікувати шляхом заміни і/або делеції, отримуючи одну, дві, три, чотири або більше консенсусних послідовностей N-глікозилювання. У деяких варіантах реалізації винаходу, поліпептид може містити 112-амінокислотну безперервну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичність 112 амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1, де 112 суміжних амінокислот містять одну, дві, три, чотири або більше консенсусних послідовностей N-глікозилювання, таких як, 1-12, 1-10, 1-8, 1-6, 1-4, 1-3 або 1-2 консенсусні послідовності N-глікозилювання.

[00124] У деяких варіантах реалізації винаходу, поліпептид може містити 112-амінокислотну безперервну послідовність, яка має щонайменше 90 % ідентичність 112 амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1, де 112 суміжних амінокислот містять одну, дві, три, чотири або більше з пар замін, які викладено в цьому документі.

[00125] Цей опис також передбачає поліпептиди, які являють собою активні фрагменти (наприклад, підпослідовності) поліпептидів, які описано вище. Довжина активних фрагментів або підпослідовностей може становити від 40 до 111 амінокислот, наприклад, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 106, 109 або до 111 амінокислот.

[00126] Поліпептиди володіють певною ідентичністю послідовності у порівнянні з еталонною послідовністю на певній довжині суміжних амінокислот (наприклад, "вікно порівняння"). Способи вирівнювання послідовностей для порівняння добре відомі в цій галузі техніки. Оптимальне вирівнювання послідовностей для порівняння може бути проведено, наприклад, за допомогою алгоритму локальної гомології Сміта-Ватермана (Smith & Waterman), Adv. Appl. Math. 2:482 (1981), за допомогою алгоритму вирівнювання гомології Нідлмана-Вунша (Needleman & Wunsch), J. Mol. Biol. 48:443 (1970), за допомогою методу пошуку подібності Пірсона-Ліпмана (Pearson & Lipman), Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988), за допомогою комп'ютерних реалізацій цих алгоритмів (GAP, BESTFIT, FASTA і TFASTA в програмному пакеті Wisconsin Genetics, Madison, Wis.), або вирівнюванням вручну з візуальним оглядом (див., наприклад, Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al., eds.1995, додаток)).

[00127] Наприклад, поліпептид, який підходить, може містити амінокислотну послідовність, яка має щонайменше близько 75 %, щонайменше близько 80 %, щонайменше близько 85 %, щонайменше близько 90 %, щонайменше близько 95 %, щонайменше близько 98 %, або щонайменше близько 99 % ідентичності амінокислотній послідовності безперервної ділянки з 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 або до 112 амінокислот SEQ ID NO:1.

[00128] Ілюстративні фрагменти поліпептидів, які описано в цьому документі, включають поліпептиди, які мають амінокислотні делеції порівняно з SEQ ID NO:1. Наприклад, поліпептиди можуть мати укорочення з N-кінця і/або укорочення з C-кінця порівняно з SEQ ID NO:1. Укорочення можуть бути на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або більше амінокислот у порівнянні з еталонним поліпептидом, наприклад, SEQ ID NO:1. У деяких варіантах реалізації винаходу, поліпептид, який становить інтерес, може містити одну або більше замін, які дозволяють впровадити консенсусну послідовність N-зв'язаного глікозилювання, таку як та, яку описано в цьому документі, і укорочення з N-кінця і/або укорочення з C-кінця порівняно з SEQ ID NO:1.

[00129] У певних варіантах реалізації винаходу, довжина поліпептиду може становити щонайменше 98 амінокислот, і може мати амінокислотну послідовність ідентичну щонайменше на 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % відповідній ділянці з 98 амінокислот в SEQ ID NO:1. Поліпептид може не містити від перших двох до перших чотирнадцяти амінокислот (наприклад, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 або 14 амінокислот) присутніх на N-

кінці SEQ ID NO:1, при збереженні амінокислот, присутніх на С-кінці SEQ ID NO:1. Іншими словами, видалена(і) амінокислота(и) відповідає N-кінцевим амінокислотам SEQ ID NO:1.

[00130] У певних варіантах реалізації винаходу, мутеїн GDF15 може бути довжиною щонайменше 106 амінокислот і мати амінокислотну послідовність ідентичну щонайменше на 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % відповідній ділянці з 106 амінокислот в SEQ ID NO:1. Мутеїн GDF15 може не містити перших шести амінокислот, які присутні на N-кінці SEQ ID NO:1.

[00131] У певних варіантах реалізації винаходу, довжина поліпептиду може становити щонайменше 109 амінокислот, і має амінокислотну послідовність ідентичну щонайменше на 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % відповідній ділянці з 109 амінокислот в SEQ ID NO:1. Мутеїн GDF15 може не містити перших трьох амінокислот, які присутні на N-кінці SEQ ID NO:1.

[00132] Ілюстративні поліпептиди цього опису можуть містити делецію двох N-кінцевих амінокислот ($\Delta N2$) по відношенню до ДТ hGDF15 і можуть бути злиті з Fc-послідовністю на N-кінці. Однак при згадуванні положення амінокислотних замінів, зазначений номер залишку являє собою залишок, який відповідає положенню в зрілому hGDF15 ДТ (ДТ; SEQ ID NO:1). Таким чином, амінокислота N на N-кінці поліпептиду, яка втрачає перші дві амінокислоти на N-кінці, може згадуватися як залишок 3, хоча це перша амінокислота в амінокислотній послідовності поліпептиду мутеїна GDF15 і передуює гетерологічній амінокислотній послідовності (наприклад, Fc).

[00133] Як зазначалося вище, фрагменти поліпептидів можуть містити одну або більше з амінокислотних замінів, які впроваджують консенсусну послідовність N-глікозилювання порівняно з послідовністю SEQ ID NO:1, наприклад, одну, дві або більше амінокислотних замінів, які описано в цьому документі.

[00134] Як зазначено вище і докладно описано нижче, поліпептиди цього опису можна модифікувати за допомогою, наприклад, пегілювання (ковалентного приєднання однієї або більше молекул поліетиленгліколю (ПЕГ) або їх похідних); глікозилювання (наприклад, N-глікозилювання), полісіалювання; утворення гібридних молекул з альбуміном, які містять сироватковий альбумін (наприклад, людський сироватковий альбумін (ЛСА), сироватковий альбумін яванського макака або бичачий сироватковий альбумін (БСА)); зв'язування з альбуміном через, наприклад, кон'югований ланцюг жирної кислоти (ацилювання); Fc-злиття; і злиття з міметиком ПЕГ. У деяких варіантах реалізації винаходу, модифікації вводять сайт-специфічним чином. В інших варіантах реалізації винаходу, модифікації включають лінкер. Лінкер може кон'юговати модифікуючу групу з поліпептидом.

[00135] В конкретних варіантах реалізації винаходу, цей опис передбачає модифікацію зрілого GDF15 людини і мутеїнів GDF15 (таких як поліпептиди, які описано вище) шляхом кон'югації з альбуміном. В інших варіантах реалізації винаходу, цей опис передбачає модифікацію поліпептидів за допомогою N-глікозилювання або O-глікозилювання. Характеристики кон'югатів альбумінів і поліпептиду (наприклад, злитих білків) і глікозильованих поліпептидів описано далі.

Fc-GDF15 злиті поліпептиди та їх комплекси

[00136] В ілюстративних варіантах реалізації винаходу, поліпептиди GDF15, які описано в цьому документі, можуть бути присутніми як злитий поліпептид, який містить Fc-поліпептид або його фрагмент, злитий з амінокислотною послідовністю одного або більше з поліпептидів, які описано в цьому документі (наприклад, молекулою GDF15 людини, модифікованими молекулами GDF15 людини, мутеїнами GDF15 і модифікованими мутеїнами GDF15). Як передбачено в цьому документі, поліпептид GDF15 може бути поліпептидом дикого типу або мутеїном, наприклад, глікозильованим мутеїном. Як використовується в цьому документі, "глікозильований мутеїн" або "глікомутеїн" або "глікозильований варіант" або "гліковаріант" в контексті поліпептиду, наприклад, поліпептиду GDF15, відноситься до поліпептиду, який містить один або більше сайт глікозилювання консенсусу в положенні амінокислотної послідовності, в цьому положенні зазначений поліпептид (дикий тип) не містить сайт глікозилювання консенсусу. У деяких випадках, злитий поліпептид може містити Fc-послідовність, злику з N-кінцем глікомутеїна GDF15, яку описано в цьому документі.

[00137] Будь-яка послідовність Fc-поліпептиду, яку описано в цьому документі або відома в цій галузі техніки, може бути одним з компонентів гібридних білків цього опису. Компоненти гібридних білків можна при необхідності ковалентно зв'язати за допомогою лінкера, наприклад, лінкерів, які описано в цьому документі. У деяких варіантах реалізації цього опису, гібридні білки містять послідовність Fc-поліпептиду у вигляді N-кінцевої частини і поліпептиди, які описано в цьому документі, у вигляді С-кінцевої частини.

[00138] У деяких випадках, Fc-партнер Fc-GDF15 злитих поліпептидів, які описано в цьому документі, може бути Fc, який має Fc послідовність IgG людини (наприклад, IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4) або її варіант. Амінокислотну послідовність Fc IgG1 людини представлено як SEQ ID NO:2:

5 [00139]

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:2)

10 [00140] Шарнірну ділянку виділено курсивом, домен CH2 підкреслено і домен CH3 виділено подвійним підкресленням. Нумерація положень в амінокислотній послідовності Fc відповідає системі нумерації, яку прийнято в ЄС (Edelman G. M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969)). Таким чином, залишок глутамінової кислоти "E" в положенні 1 в SEQ ID NO:2 нумерується як 216; домен CH2 починається з аланіну (A), який має номер 231; домен CH3 починається з гліцину (G), який має номер 341, у відповідності з нумерацією ЄС.

15 [00141] Fc-партнер Fc-GDF15 злитих поліпептидів, які описано в цьому документі, може бути Fc, яке має безперервну амінокислотну послідовність, яка щонайменше на 90 % ідентична SEQ ID NO:2, наприклад, на щонайменше 93 %, щонайменше 95 %, щонайменше 97 %, щонайменше 98 % або більше ідентична SEQ ID NO:2. У певних варіантах реалізації винаходу, Fc-партнер
 20 може бути фрагментом Fc, який містить домен CH3 або безперервну амінокислотну послідовність, яка на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична домену CH3 в SEQ ID NO:2. У певних варіантах реалізації винаходу, Fc-партнер може бути фрагментом Fc, який містить домен CH2 і домен CH3 або безперервну амінокислотну послідовність, яка на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 %
 25 ідентична доменам CH2 і CH3 в SEQ ID NO:2. У певних варіантах реалізації винаходу, Fc-партнер може бути фрагментом Fc, який містить часткову ділянку шарніра, домен CH2 і домен CH3 або безперервну амінокислотну послідовність, яка на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична ділянці шарніра, домену CH2 і домену CH3 в SEQ ID NO:2. У деяких варіантах реалізації винаходу, Fc-партнер може мати амінокислотну
 30 послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності, викладеній в SEQ ID NO:2.

[00142] У деяких випадках, Fc-партнер Fc-GDF15 злитих поліпептидів може містити сконструйоване вип'ячування, це вип'ячування може пов'язати інший Fc-поліпептид, який містить сконструйовану впадину. В інших випадках, Fc-партнер Fc-GDF15 злитих поліпептидів
 35 може містити сконструйовану впадину, ця западина може пов'язати інший Fc-поліпептид, який містить сконструйоване вип'ячування. Ілюстративні Fc-послідовності зі сконструйованим вип'ячуванням і/або западиною описані в патенті США 8216805. У певних випадках, вип'ячування і западина можуть бути сконструйовані в домені CH3 Fc-поліпептиду. У певних
 40 випадках, Fc-партнер, який пов'язаний із Fc-GDF15 злитими поліпептидами цього опису, не є кон'югованим із поліпептидом GDF15. Відповідно, Fc-партнер димеризується з Fc-GDF15 злитим поліпептидом формуючи гетеродимер з одною GDF15 молекулою на гетеродимер.

[00143] "Вип'ячування" або "виступи" можуть бути сконструйовані за допомогою заміни невеликих амінокислотних бічних ланцюгів в домені CH3 першого поліпептиду на амінокислоти з більш великими бічними ланцюгами (наприклад, тирозину або триптофану). Компенсаційні
 45 "западини" або "дірки" ідентичного або схожого до вип'ячування розміру можуть бути створені за бажанням в домені CH3 другого поліпептиду за допомогою заміни великих амінокислотних бічних ланцюгів меншими (наприклад, аланіном або треоніном).

[00144] "Першим поліпептидом" може бути будь-який поліпептид, який повинен бути пов'язаний з другим поліпептидом. Перший і другий поліпептид зустрічаються в "поверхні
 50 контакту" (визначено нижче). На додаток до поверхні контакту, перший поліпептид може містити один або більше додаткових доменів, таких як домен CH2 або ділянка шарніра. У певних випадках, перший поліпептид містить домен CH3, який може формувати поверхню контакту з першим поліпептидом.

[00145] "Другий поліпептид" може бути будь-яким поліпептидом, який повинен бути пов'язаний із першим поліпептидом через "поверхню контакту". На додаток до поверхні
 55 контакту, другий поліпептид може містити один або більше додаткових доменів, таких як домен CH2 або ділянка шарніра. У певних випадках, другий поліпептид містить домен CH3, який може формувати поверхню контакту з другим поліпептидом.

[00146] "Поверхня контакту" містить ті "контактні" амінокислотні залишки (або інші не
 60 амінокислотні групи, такі як вуглеводні групи, НАДН, біотин, ФАД або гем-групу) у першому

поліпептиді, які взаємодіють з одним або більше "контактними" амінокислотними залишками (або іншими не амінокислотними групами) на поверхні контакту другого поліпептиду. У певних випадках, поверхня контакту може бути доменом імуноглобуліну, таким як константний домен (або його фрагменти). У певних випадках, поверхня контакту містить домен CH3 імуноглобуліну, який є похідним від IgG антитіл, наприклад, антитіла IgG1, IgG2, IgG3 або IgG4 людини.

[00147] "Вип'ячування" відноситься до щонайменше одного бічного ланцюга амінокислоти, яка виступає з поверхні контакту першого поліпептиду і, отже, позиціонується в компенсаційну западину в суміжній поверхні контакту (тобто, поверхні контакту другого поліпептиду) з тим, щоб стабілізувати гетеродимер, і тим самим сприяють кращому утворенню гетеродимеру, а не гомодимеру. Наприклад, западина може існувати у вихідній поверхні контакту або може бути введена штучно (наприклад, шляхом зміни нуклеїнових кислот, які кодують поверхню контакту). Вип'ячування може бути введено штучно (наприклад, шляхом зміни нуклеїнових кислот, які кодують поверхню контакту) наприклад, рекомбінантними способами.

[00148] "Западина" відноситься до щонайменше одного бічного ланцюга амінокислоти, яка заглиблена у поверхню контакту другого поліпептиду і, отже, вміщує відповідне вип'ячування на сусідній поверхні контакту першого поліпептиду. Западина може існувати у вихідній поверхні контакту або може бути введена штучно (наприклад, шляхом зміни нуклеїнових кислот, які кодують поверхню контакту). Наприклад, нуклеїнова кислота, що кодує поверхню контакту другого поліпептиду змінюється для кодування западини.

[00149] Вип'ячування також згадується як "виступ" і западина також згадується як "западина". Ілюстративні вип'ячування і порожнини представлені в патенті США 8216805 і містять заміни наступних амінокислотних положень: 347, 366, 368, 394, 405 і 407. Нумерація положень амінокислоти відповідає системі нумерації, прийнятої в ЕС. Сконструйоване вип'ячування може включати в себе щонайменше одну заміну відповідної амінокислоти в Fc-послідовності IgG1 людини, причому заміна відбувається в положенні, яке обрано з групи, яка складається з амінокислотних залишків 347, 366 і 394. Наприклад, щонайменше одна заміна є обраною з групи, яка складається з Q347W/Y, T366W/Y і T394W/Y. У певних випадках, сконструйована западина містить щонайменше одну заміну відповідної амінокислоти в Fc-послідовності IgG1 людини, причому заміна відбувається в положенні, яке обрано з групи, яка складається з амінокислотних залишків 366, 368, 394, 405 і 407. Наприклад, щонайменше одна заміна є обраною з групи, яка складається з T366S, L368A, T394S, F405T/V/A і Y407T/V/A.

[00150] У певних випадках, вип'ячування може містити заміну T366W/Y і западина може містити заміни T366S, L368A і Y407T/V/A.

[00151] Наприклад, вип'ячування може містити заміну T366W/Y і западина може містити заміну Y407T/V/A. В інших випадках, вип'ячування може містити заміну T366Y і западина може містити заміну Y407T. В інших прикладах, вип'ячування може містити заміну T366W і западина може містити заміну Y407A. У подальших прикладах, вип'ячування може містити заміну T394Y і западина може містити заміну Y407T.

[00152] У певних варіантах реалізації винаходу, Fc-партнер поліпептиду GDF15 в злитому поліпептиді може містити додаткові мутації, які покращують якість злиття поліпептиду. Як такі, Fc-послідовності в першому і другому поліпептидах, які описано в цьому документі, можуть містити додаткові мутації. Наприклад, послідовність Fc-партнера може містити мутацію(ii), яка скасовує ефекторну функцію (наприклад, зменшує або усуває) IgG, яка в іншому випадку може бути ознакою Fc-партнера. У певних випадках, послідовність Fc-партнера може містити мутацію(ii), яка скасовує ефекторні функції, такі як комплемент-залежну цитотоксичність (K3Ц), антитілозалежну клітинну цитотоксичність (A3KЦ) і антитіло-залежний фагоцитоз клітин (ADCP).

[00153] Чотири ізотипи IgG людини зв'язують рецептори активації Fcγ (FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIIa), інгібуючий рецептор FcγRIIb, і перший компонент комплементу (C1q) з різною спорідненістю, отримуючи дуже різні ефекторні функції. Таким чином, мутації в рамках ділянок зв'язування можуть мати істотний вплив на ефекторну функцію.

[00154] Зв'язування IgG з FcγRs або C1q залежить від залишків, розташованих в ділянці шарніра і домену CH2. Дві ділянки домену CH2 мають вирішальне значення для FcγRs і C1q зв'язування, і мають унікальні послідовності в IgG2 і IgG4. Було продемонстровано, що заміни в IgG1 людини на залишки IgG2 в положеннях 233-236 та залишки IgG4 в положеннях 327, 330 і 331 значно знижують активність A3KЦ і K3Ц (Armour K.L. et al., 1999. Eur. J. Immunol. 29 (8):2613-24; Shields R. L. et al., 2001, J. Biol. Chem. 276 (9):6591-604). Крім того, Idusogie та ін. продемонстрували, що заміна аланіну в різних положеннях, включаючи K322, значно знижує активацію комплементу (Idusogie E. E. et al., 2000. J. Immunol. 164 (8):4178-84). Аналогічно, було показано, що мутації в домені CH2 мишачого IgG2A зменшують зв'язування з FcγRI і C1q (Steurer W. et al., 1995. J. Immunol. 155 (3):1165-74). У деяких варіантах реалізації винаходу, Fc-

поліпептид містити мутацію в домені CH2, який скасовує ефекторну функцію(ii) IgG. Ілюстративні мутації в ділянках CH2 включають: APELLGGP (SEQ ID NO:96) (APALLGGP (SEQ ID NO:98); APELLGGP (SEQ ID NO:96) (APELAGGP (SEQ ID NO:99); і APELLGGP (SEQ ID NO:96) (APALAGGP (SEQ ID NO:97).

5 [00155] У деяких варіантах реалізації винаходу, Fc-поліпептид кон'юговано з глікомутеїнами GDF15, які містять частину або всі послідовності шарніру дикого типу (зазвичай на його N-кінці). У деяких варіантах реалізації винаходу, Fc-поліпептид не містить функціональної послідовності або послідовності шарніру дикого типу. У певних випадках, Fc-послідовність може містити одну з наступних шарнірних послідовностей: EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:100);
10 KSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:101); SCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:102); CDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:103); DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:104); KTHTCPPCP (SEQ ID NO:105); THTCPPCP (SEQ ID NO:106); або CPPCP (SEQ ID NO:107); або варіант, який має одну або більше замін (наприклад, 1-6 замін, наприклад, 1-5, 1-4, 1, 2, 3, 4, 5 або 6 замін). У певних випадках, Fc-послідовність може містити ділянку шарніра, який формує ковалентний зв'язок (наприклад, одну або більше дисульфідних зв'язків) з ділянкою шарніра іншого Fc. Таким чином, у певних варіантах реалізації винаходу, перший і другий поліпептиди в комплексі, який описано в цьому документі, може бути зв'язаний через ковалентні взаємодії між ділянками шарніра першого і другого поліпептидів. Ковалентна взаємодія може включати в себе одну або дві міжмолекулярні дисульфідні зв'язки.

20 [00156] Як детально описано в цьому документі, передбачається перший поліпептид, який містить послідовність Fc виступу або западини, кон'юговано з глікомутеїном GDF15. Такий поліпептид може бути в комплексі з другим Fc-поліпептидом, з яким перший поліпептид може фізично зв'язатися через розміщення виступу-в-западину на Fc-послідовності.

[00157] У певних випадках, описано комплекс першого Fc-поліпептиду і другого Fc-поліпептиду. Одним з першого або другого поліпептиду може бути злитий поліпептид з Fc і GDF15. Як зазначається в цьому документі, GDF15 поліпептид може містити мутацію(ii) глікозилювання, яка призводить до глікозилювання GDF15 поліпептиду. Глікозилюваний GDF15 поліпептид може також згадуватися як GDF15-глікан або GDF15-глікомутеїн. GDF15-глікан або GDF15-глікомутеїн можуть бути такими, як описано в цьому документі. У певних випадках,
30 GDF15-глікан або GDF15-глікомутеїн, які злито з Fc-виступом або Fc-западиною поліпептиду, який представлено в цьому документі, можуть бути поліпептидом, який містить безперервну амінокислотну послідовність, яка щонайменше на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1, де безперервна амінокислотна послідовність має заміну D5T; D5S; або R21N порівняно з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO:1. У певних варіантах реалізації винаходу, GDF15-глікан або GDF15-глікомутеїн, які злито з Fc-виступом або Fc-западиною поліпептиду, можуть бути поліпептидом,
35 який має амінокислотну послідовність, яка щонайменше на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1, де амінокислотна послідовність містить одну або більше з наступних пар замін, порівняно з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO:1:

- xvii. R16N і H18T або R16N і H18S;
- xviii. S23N і E25T або S23N і E25S;
- xix. S50N і F52T або S50N і F52S;
- xx. F52N і A54T або F52N і A54S;
- 45 xxi. R53N і A55T або R53N і A55S;
- xxii. S64N і H66T або S64N і H66S;
- xxiii. K91N і D93T або K91N і D93S;
- xxiv. D93N і G95T або D93N і G95S;
- xxv. T94N і V96T або T94N і V96S;
- 50 xxvi. V96N і L98T або V96N і L98S;
- xxvii. S97N і Q99T або S97N і Q99S; і
- xxviii. A106N і D108T або A106N і D108S

[00158] У певних випадках, комплекс може містити перший і другий поліпептиди. Перший поліпептид може містити Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG може містити
55 CH3 послідовність, яка містить щонайменше одне сконструйоване вип'ячування; і другий поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить CH3 послідовність, яка містить щонайменше одну сконструйовану западину, причому перший поліпептид димеризується з другим поліпептидом за допомогою позиціонування вип'ячування першого поліпептиду в западину другого поліпептиду, і причому або C-кінець першого поліпептиду, або C-кінець другого поліпептиду кон'юговано з N-кінцем мутеїна GDF15, який

містить щонайменше один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання. Відповідно, комплекс містить гетеродимер з першого поліпептиду і другого поліпептиду. Оскільки або перший, або другий поліпептид злито з мутеїнами GDF15, які описано в цьому документі, присутня одна GDF15 молекула на гетеродимер. У певних випадках, мутеїн GDF15 може бути

5 мутеїном GDF15, який описано в цьому документі.
[00159] Як обговорюється в цьому документі, перший і другий поліпептиди можуть взаємодіяти для формування гетеродимеру за допомогою ковалентних і/або нековалентних взаємодій, таких як, гідрофобні взаємодії, дисульфідні зв'язки, або і те і інше.

10 [00160] У певних варіантах реалізації винаходу описано комплекс, який містить перший гетеродимер і другий гетеродимер. Кожен із першого і другого гетеродимерів може містити перший поліпептид і другий поліпептид, причому перший поліпептид може містити Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG може містити послідовність CH3, яка містить щонайменше одне сконструйоване вип'ячування; другий поліпептид може містити Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG може містити послідовність CH3, яка містить

15 щонайменше одну сконструйовану западину; причому перший поліпептид димерізується з другим поліпептидом за допомогою позиціонування вип'ячування першого поліпептиду в западину другого поліпептиду, причому або C-кінець першого поліпептиду, або C-кінець другого поліпептиду кон'юговано з N-кінцем мутеїна GDF15, який містить щонайменше один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання, причому мутеїн GDF15 в першому

20 гетеродимері димерізується з мутеїном GDF15 у другому гетеродимері тим самим формуючи комплекс, який містить перший гетеродимер і другий гетеродимер. В обсязі цього опису комплекс містить перший гетеродимер фізично зв'язаний з другим гетеродимером, присутні дві молекули GDF15 на комплекс гетеродимер-гетеродимер.

25 [00161] Як зазначається в цьому документі, гетеродимер за допомогою ковалентних і/або нековалентних взаємодій, таких як, гідрофобні взаємодії, дисульфідні зв'язки, або і те і інше, і перший і другий гетеродимери димерів можуть взаємодіяти для формування димер-димерного комплексу за допомогою ковалентних і/або нековалентних взаємодій, таких як, гідрофобні взаємодії, дисульфідні зв'язки, або і те і інше.

30 [00162] У деяких випадках, мутеїни GDF15, які присутні в кожному з гетеродимерів, які описано в цьому документі, наприклад, у комплексі з двох гетеродимерів, можуть бути ідентичними за послідовності або різними. У певних випадках, мутеїн GDF15 у комплексі з двох гетеродимерів, може бути ідентичний по послідовності.

35 [00163] В цьому документі описано ілюстративні Fc-послідовності для злиття з мутеїнами GDF15 і як партнери зв'язування з Fc-GDF15 злитими білками. У певних варіантах реалізації винаходу, Fc-послідовності, які присутні в комплексах згідно цього опису, можуть бути подібні або ідентичні по послідовності, яка відмінна від сконструйованих послідовностей "виступу і "западини".

40 [00164] У деяких випадках перший і другий поліпептиди, які можуть взаємодіяти для формування комплексів, описаних в цьому документі, можуть бути зазначені нижче як Пара I по VIII. У послідовностях, які викладено нижче, Fc-послідовність імуноглобуліну G1 (hlgG1) людини слідує за послідовністю лінкера (підкреслено), яка слідує за послідовністю мутеїна GDF15 (жирний шрифт).

Пара I:

Перший поліпептид: hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₂-ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)

45 [00165]

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGNGTHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGW
50 **ADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDG**
VSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:3)

Другий поліпептид: hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00166]

55 DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:4)

Пара II:

Перший поліпептид: hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)

[00167]

DKTHTCPPCPAP**ALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA**
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
 REEMTKNQVSL**W**CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG
 NVFSCSVMH¹EA²LHNHYTQKSLSLSPGK**GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG****NGTHCPLGPR**
CCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCC
 VPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:5)

Другий поліпептид: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00168]

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLSCAVKGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHLEHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:6)

Пара III:

Перший поліпептид: hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R21N)

[00169]

[illegible]

Другий поліпептид: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00170]

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLSCAVKGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:8)

Пара IV:

Перший поліпептид: hIgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(S23N/E25T)

[00171]

[illegible]

Другий поліпептид: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00172]

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLSCAVKGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHLEHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:10)

Пара V:

Перший поліпептид: hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(F52N/A54T)

[00173]

[illegible]

Другий поліпептид: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00174]

DKTHTCPPCPAP**ALAG**GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSL**SCA**VKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFL**V**SKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMH~~ALHN~~HYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:12)

Пара VI:

Перший поліпептид: hIgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R53N/A55T)

[00175]

[illegible]

Другий поліпептид: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00176]

DKTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSL**SC**AVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFFLVSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:14)

Пара VII:

Перший поліпептид: hIgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112) (K91N/D93T)

[00177]

[illegible]

Другий поліпептид: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00178]

DKTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSL**SCA**VKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMH¹EA²LHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:16)

Пара VIII:

Перший поліпептид: hlgG1-Fc(AA)(T366W)- (G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(D93N/G95T)

[00179]

DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPLGPGRC
CRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCV
PASYNPMVLIQKTNNTTVSLQTYDDLAKDCHCI (SEQ ID NO:17)

Другий поліпептид: hIgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00180]

DKTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSL**SCA**VKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMH¹EA²LHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:18)

[00181] У деяких випадках перший і другий поліпептиди, які можуть взаємодіяти для утворення комплексів, які описано в цьому документі, можуть мати амінокислотну послідовність щонайменше на 80 % ідентичну амінокислотній послідовності першого і другого поліпептидів, відповідно, як описано вище в Парах з I по VIII. Наприклад, ідентичність послідовності може бути щонайменше 85 %, щонайменше 90 %, щонайменше 95 %, щонайменше 97 %, щонайменше 99 % або більше.

[00182] У деяких варіантах реалізації винаходу, комплекс може містити перший поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:3; і другий поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:4, де перший і другий поліпептиди ковалентно з'єднані через щонайменше один міжмолекулярний дисульфідний зв'язок. Також в цьому документі представлено комплекси, які містять перший гетеродимер і другий гетеродимер, кожен з першого гетеродимера і другого гетеродимера містити перший поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:3; і другий поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:4, де перший і другий поліпептиди ковалентно з'єднані через щонайменше один міжмолекулярний дисульфідний зв'язок.

97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:3; і другий поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:4.

[00183] У деяких варіантах реалізації винаходу, комплекс може містити перший поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:5; і другий поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:6, де перший і другий поліпептиди ковалентно з'єднані через щонайменше один міжмолекулярний дисульфідний зв'язок. Також в цьому документі представлено комплекси, які містять перший гетеродимер і другий гетеродимер, кожен з першого гетеродимера і другого гетеродимера містить перший поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:5; і другий поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:6.

[00184] У деяких варіантах реалізації винаходу, комплекс може містити перший поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:7; і другий поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:8, де перший і другий поліпептиди ковалентно з'єднані через щонайменше один міжмолекулярний дисульфідний зв'язок. Також в цьому документі представлено комплекси, які містять перший гетеродимер і другий гетеродимер, кожен з першого гетеродимера і другого гетеродимера містить перший поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:7; і другий поліпептид, який має амінокислотну послідовність на щонайменше 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:8.

[00185] У конкретних варіантах реалізації винаходу, комплекси, які описано в цьому документі, можуть містити два гетеродимера, кожен гетеродимер містить:

[00186] (a) hlgG1-Fc поліпептид, який містить виступ (Fc-виступ) і має послідовність:

[00187]
DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:127); и

[00188] (b) hlgG1-Fc поліпептид, який містить западину (Fc-западину) і має послідовність:

[00189]
DKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:4),

[00190] де будь-який Fc-виступ (a), або Fc-западина (b) злиті на C-кінці з N-кінцем глікомутеїна GDF15. Послідовність глікомутеїна GDF15 може бути наступною:

[00191]
ARNGTHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLH
RLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:128; GDF15 (A1-
I112) D5T); або

[00192]
NGTHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRL
KPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:129; ΔN2-GDF15 (N3-
I112) D5T); або

[00193]
GTHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLK
PDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:130; ΔN3-GDF15 (G4-
I112) D5T); або

[00194]
GDHCPPLGPGRCCRLHTVNASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLK
PDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:131; ΔN3-GDF15 (G4-
I112) R21N); або

[00195]

GDHCPLGPGRCCRLHTVRANLTDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLK
PDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:132; ΔN3-GDF15 (G4-
I112) (S23N/E25T)); або

5 [00196]

GDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQNRTANMHAQIKTSLHRLK
PDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:133; ΔN3-GDF15 (G4-
I112)(F52N/A54T)); або

[00197]

10 GDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFNATNMHAQIKTSLHRLK
PDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:134; ΔN3-GDF15 (G4-
I112)(R53N/A55T)); або

[00198]

15 GDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLK
PDTVPAPCCVPASYNPMVLIQNTTTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:135; ΔN3-GDF15 (G4-
I112) (K91N/D93T)); або

[00199]

20 GDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLK
PDTVPAPCCVPASYNPMVLIQKTNTTVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:136; ΔN3-GDF15 (G4-
I112)(D93N/G95T)).

25 [00200] У деяких прикладах, амінокислотна послідовність Fc-виступу може бути на
щонайменше 85 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або більше ідентична
амінокислотній послідовності SEQ ID NO:127. У деяких прикладах, амінокислотна послідовність
Fc-виступу може бути на щонайменше 85 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або
більше ідентична амінокислотній послідовності SEQ ID NO:4. У деяких прикладах,
амінокислотна послідовність мутеїна GDF15 може бути на щонайменше 85 %, 90 %, 92 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або більше ідентична амінокислотній послідовності будь-якої з SEQ ID NO:128-136.

30 [00201] Fc-виступ або Fc-западина можуть бути з'єднані з глікомутеїном GDF15 через
послідовність лінкера (G4S)_n, де n може дорівнювати від 1 до 10, наприклад, 2, 3, 4 або 5.

[00202] У деяких прикладах, комплекси цього опису можуть мати відновлення від
щонайменше 50 мг/л, наприклад, щонайменше більш ніж 55 мг/л, 60 мг/л, 65 мг/л, 70 мг/л, 75
мг/л, 80 мг/л, 85 мг/л, 90 мг/л, 95 мг/л, 100 мг/л, 110 мг/л, 120 мг/л, 130 мг/л, 140 мг/л, 150 мг/л,
160 мг/л, 170 мг/л, 180 мг/л, 190 мг/л, 200 мг/л або більше. У деяких випадках комплекси цього
опису можуть мати відновлення від щонайменше 50 мг/л-300 мг/л, наприклад 60 мг/л-300 мг/л,
35 75 мг/л-300 мг/л, 75 мг/л-250 мг/л, 75 мг/л-200 мг/л, 75 мг/л-175 мг/л, 75 мг/л-150 мг/л, 100 мг/л-
300 мг/л, 100 мг/л-250 мг/л, 100 мг/л-200 мг/л, 100 мг/л-150 мг/л, 100 мг/л-125 мг/л, 110 мг/л-300
мг/л або 150 мг/л-300 мг/л. Відновлення комплексу відноситься до кількості повністю зібраного
димер-димерного комплексу, отриманого з культурального середовища, в якому культивують
клітину-хазяїна, яка експресує перший і другий поліпептиди, які формують два димери, які
40 присутні в кожному повністю зібраному комплексі.

[00203] В цьому описі також розглядаються партнери злиття Fc-поліпептиду і злиті білки, які
містять такі молекули, де партнер злиття Fc-поліпептиду модифіковано, щоб бути одним з
партнерів зарядженої пари Fc. "Партнер зарядженої пари Fc" відноситься до (i) "негативно
45 зарядженої" Fc-послідовності (з необов'язково відсутньою шарнірною ділянкою), яка містить
мутацію зарядової пари або (ii) "позитивно зарядженої" Fc-послідовності (з необов'язково
відсутньою шарнірною ділянкою), яка містить мутацію зарядової пари. "Позитивно заряджений" і
"негативно заряджений" використовуються в цьому документі для зручності опису природи
мутації зарядової пари в Fc-послідовностях, а не для вказівки, що послідовність або конструкт в
50 цілому обов'язково має позитивний або негативний заряд. Амінокислотні послідовності
зарядженого Fc, придатні для використання у конструктах поліпептиду (наприклад, глікомутеїн
GDF15, модифіковані глікомутеїни GDF15), які використовуються цьому описі в, наприклад, WO
2013/113008.

[00204] Приклади позитивно зарядженого Fc ("Fc(+)") включають Fc, який містить мутацію
55 заміни аспарагінової кислоти на лізин (E356K) і мутацію заміни глутамінової кислоти на лізин
(D399K) Fc-послідовності з відсутньою шарнірною ділянкою. Приклади негативно зарядженого
Fc ("Fc(-)") включають Fc, який містить дві мутації заміни лізину на аспартат (K392D, K409D) в
Fc-послідовності з відсутньою шарнірною ділянкою. С-кінцевий лізин (K477) також можна
видалити за необхідності. Коли злитий білок на основі Fc(+)поліпептиду (наприклад, злитий
60 білок мутеїна Fc(+)GDF15) і злитий білок на основі Fc(-)поліпептиду (наприклад, злитий біло

мутеїна Fc(-)GDF15) інкубують спільно, залишки аспартату асоціюють із залишками лізину за допомогою електростатичних сил, полегшуючи утворення Fc-гетеродимерів між Fc(+) і Fc(-) послідовностями злитих білків на основі GDF15 поліпептиду.

[00205] Цей опис також передбачає конструкти, які називають конструктами "гемі" або "гемі-Fc", які містять дві Fc-послідовності, з'єднані тандемом за допомогою лінкера, який з'єднує N-кінець першої Fc-послідовності з C-кінцем другої Fc-послідовності. У деяких варіантах реалізації винаходу, мономер містить послідовність поліпептиду (наприклад, зрілого модифікованого GDF15 або глікомутеїна GDF15), яка зв'язана з першою Fc-послідовністю за допомогою першого лінкера, який з'єднує N-кінець послідовності GDF15 з C-кінцем першої Fc-послідовності, причому перша Fc-послідовність з'єднана з другою Fc-послідовністю за допомогою другого лінкера, який з'єднує N-кінець першої Fc-послідовності з C-кінцем другої Fc-послідовності. Перша і друга Fc-послідовності також пов'язані за допомогою шарнірних ділянок Fc. Два таких мономера асоціюють для формування димеру, в якому мономери зв'язані за допомогою міжланцюгового дисульфідного зв'язку між двома послідовностями поліпептиду. Приклади гемі-Fc-поліпептидів, придатних для використання з мутеїнами GDF15 відповідно до цього опису, див. у WO 2013/113008.

[00206] Цей опис також передбачає гібридні білки, які мають мультимер Fc-поліпептидів або їх фрагменти, включаючи партнер зарядженої Fc-пари (наприклад, Fc- мультимер).

[00207] Комплекси згідно цього опису мають поліпшені властивості, такі як збільшену розчинність, зменшену агрегацію, і/або збільшений період напівжиття в сироватці крові. У певних випадках, розчинність комплексів в цілому була поліпшена в порівнянні з некон'югованим рекомбінантним GDF15 людини і Fc (виступ або западина) кон'югованого GDF15 дикого типу. У певних варіантах реалізації винаходу, комплекс має розчинність щонайменше 1 мг/мл у фосфатно-сольовому буфері (PBS) при pH 7,0. В інших варіантах реалізації винаходу, комплекс має розчинність щонайменше 2 мг/мл, щонайменше 3 мг/мл, щонайменше 4 мг/мл, або щонайменше 5 мг/мл. В інших варіантах реалізації винаходу, комплекс має розчинність щонайменше 6 мг/мл у фосфатно-сольовому буфері (PBS) при pH 7,0, щонайменше 7 мг/мл, щонайменше 8 мг/мл, щонайменше 9 мг/мл або щонайменше 10 мг/мл. У конкретних варіантах реалізації винаходу, комплекс має розчинність більше ніж 10 мг/мл.

[00208] Глікозилювання: Для цілей цього опису мається на увазі, що "глікозилювання" в широкому сенсі відноситься до ферментативного процесу приєднання гліканів до білків, ліпідів або інших органічних молекул. Використання терміну "глікозилювання" у поєднанні з цим описом, як правило, означає додавання або видалення однієї або більше з вуглеводних груп (або шляхом переміщення основного сайту глікозилювання, або шляхом видалення глікозилювання за допомогою хімічних і/або ферментативних способів), і/або додавання одного або більше сайтів глікозилювання, які можуть або не можуть бути присутніми в нативній послідовності. Крім того, ця фраза включає якісні зміни глікозилювання нативних білків, пов'язані зі зміною природи і пропорції різних наявних вуглеводних залишків.

[00209] Глікозилювання може істотно впливати на фізичні властивості білків і може мати важливе значення для стабільності, секреції та субклітинної локалізації білка. Фактично, глікозилювання мутеїнових поліпептидів GDF15, які описано в цьому документі, вигідно покращує їх фізичні властивості. В якості прикладу, але не обмежуючись ним, розчинність мутеїнів GDF15 можна поліпшити шляхом глікозилювання, і таке поліпшення може бути значним (див. Приклади). Поліпшення розчинності, яке демонструється такими модифікованими мутеїнами GDF15, може, наприклад, включати створення составів, які більш підходять для фармацевтичного введення, ніж неглікозильовані GDF15/мутеїни GDF15. Глікозильовані GDF15/мутеїнові поліпептиди GDF15 також можуть демонструвати підвищену стабільність. Крім того, поліпептиди можуть поліпшити одне або декілька з фармакокінетичних властивостей, таких як, період напівжиття.

[00210] Додавання сайтів глікозилювання можна здійснити шляхом зміни амінокислотної послідовності, як описано вище. Зміну поліпептиду можна здійснити, наприклад, шляхом додавання або заміни одного або більше із залишків серину або треоніну (для сайтів O-зв'язаного глікозилювання) або аспарагіну (для сайтів N-зв'язаного глікозилювання). Структури N-зв'язаних і O-зв'язаних олігосахаридів і залишків цукру, які виявляються при кожному типі, можуть відрізнятися. Один із цукрів, зазвичай присутній в обох варіантах, являє собою N-ацетилнейрамінову кислоту (яку далі називають сіаловою кислотою). Сіалова кислота зазвичай є кінцевим залишком як N-зв'язаних, так і O-зв'язаних олігосахаридів і, за рахунок свого негативного заряду може надавати глікопротеїну кислі властивості. Конкретний варіант реалізації цього опису включає одержання та застосування варіантів N-глікозилювання, які

описано вище.

[00211] Іншим способом збільшення кількості вуглеводних залишків у поліпептиді є хімічне або ферментативне приєднання глікозидів до поліпептиду.

[00212] Клітини яєчника китайського хом'яка (CHO), дефіцитні за дигідрофолатредуктази (DHFR), являють собою клітини-хазяї, які зазвичай використовуються для отримання рекомбінантних глікопротеїнів. Ці клітини не експресують фермент бета-галактозид-альфа-2,6-сіалілтрансферазу і тому не приєднують сіалову кислоту за допомогою альфа-2,6 зв'язку до N-зв'язаних олігосахаридів глікопротеїнів, які продукуються в цих клітинах.

[00213] У конкретних варіантах реалізації винаходу, мутеїни GDF15, які містять щонайменше один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання, є глікозильованими. Таким чином, в конкретних варіантах реалізації винаходу, мутеїни GDF15 в комплексах, які описано в цьому документі, можуть бути глікозильованими на консенсусному сайті N-зв'язаного глікозилювання, який введено в мутеїн GDF15. У певних випадках, коли комплекс, який описано в цьому документі, може включати в себе глікозильований GDF15, такий як, глікозильований GDF15, вироблений під час експресії з клітинної лінії, комплекс може бути оброблений після виробництва для видалення вуглеводного фрагменту. Видалення після виробництва вуглеводного фрагменту може призвести до видалення практично всіх груп вуглеводів, прикріплених до мутеїну GDF15 (і Fc-послідовності) під час експресії у еукаріотичній клітині-хазяїні.

[00214] Таким чином, цей опис передбачає кон'югування одного або більше додаткових компонентів або молекул по N- і/або C-кінцю поліпептидної послідовності, наприклад, ще одного білка (наприклад, білка, який містить амінокислотну послідовність, гетерологічну по відношенню до білка суб'єкту) або молекули-носія. Таким чином, ілюстративна поліпептидна послідовність може бути представлена у вигляді кон'югату з іншим компонентом або молекулою.

[00215] Поліпептид можна також кон'югувати з великими, макромолекулами, які повільно метаболізуються, наприклад, білками; полісахаридами, наприклад, сефарозою, агарозою, целюлозою, гранулами целюлози; полімерними амінокислотами, наприклад, поліглутаміновою кислотою, полілізином; сополімерами амінокислот; інактивованими вірусними частками; інактивованими бактеріальними токсинами, наприклад, анатоксинами дифтерії, правця, холери, молекулами лейкотоксинів; інактивованими бактеріями; і дендритними клітинами. Такі кон'юговані форми при бажанні можна використовувати для отримання антитіл проти поліпептиду відповідно до цього опису. У певних випадках, GDF15 у комплексах, які описано в цьому документі, може бути поліпептидом, який кон'юговано з великими молекулами, які повільно метаболізуються.

[00216] Додаткові кандидати-компоненти і молекули для кон'югування включають молекули, які підходять для виділення та очищення. Конкретні не обмежуючі Приклади включають зв'язувальні молекули, наприклад, біотин (специфічно зв'язуюча пара біотин-авідін), антитіло, рецептор, ліганд, лектин або молекули, які містять твердий носій, в тому числі, наприклад, пластикові або полістиролові гранули, планшети або гранули, магнітні гранули, тест-смужки і мембрани.

[00217] Для розподілу кон'югатів відповідно до різниці заряду можна використовувати такі способи очищення, як катіонообмінну хроматографію, яка ефективно розподіляє кон'югати різної молекулярної маси. Наприклад, можна завантажити катіонообмінну колонку, промити її ~ 20 mM ацетатом натрію, pH ~ 4, а потім елювати лінійним (0-0,5 M) градієнтом NaCl, який забуферено при pH від 3 до 5,5, наприклад, при pH ~ 4,5. Вміст фракцій, отриманої за допомогою катіонообмінної хроматографії, можна ідентифікувати по молекулярній масі з використанням звичайних способів, наприклад, мас-спектроскопії, електрофорезу в ДСН-ПААГ або інших відомих способів розподілення молекулярних структур по молекулярній масі.

[00218] Лінкери: Будь-який із вищевказаних компонентів і молекул, які використовуються для зміни поліпептидних послідовностей згідно цього опису, при необхідності можна кон'югувати за допомогою лінкера. Підходящі лінкери включають "гнучкі лінкери", які, як правило, володіють достатньою довжиною, яка забезпечує деякий рух модифікованих поліпептидних послідовностей і зв'язаних компонентів і молекул. Довжина лінкерних молекул може становити близько 6-50 атомів. Лінкерні молекули можуть також являти собою, наприклад, арілацетилен, олігомери етиленгліколю, які містять 2-10 мономерних одиниць, діаміни, дикислоти, амінокислоти або їх комбінації. Підходящі лінкери можуть бути легко обрані та вони можуть бути будь-якої довжини, такої як 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30, 30-50 амінокислот.

[00219] Ілюстративні гнучкі лінкери включають полімери гліцину (G)_n, полімери гліцин-аланіну, полімери аланін-серину, полімери гліцин-серину (наприклад, (G_mS_o)_n, (GSGGS)_n (SEQ ID NO:120), (G_mS_oG_m)_n, (G_mS_oG_mS_oG_m)_n (SEQ ID NO:121), (GSGGS_m)_n (SEQ ID NO:122),

(GSGS_mG)_n (SEQ ID NO:123) і (GGGS_m)_n (SEQ ID NO:124), і їх комбінації, де m, n, і о кожен незалежно обрано з цілого числа від щонайменше 1 до 20, наприклад, 1-18, 2-16, 3-14, 4-12, 5-10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10), та інші гнучкі лінкери. Полімери гліцину і гліцин-серину є відносно неструктурованими, і, отже, можуть слугувати в якості нейтрального троса між компонентами. Ілюстративні гнучкі лінкери включають, але не обмежуються зазначеним далі, GGSG (SEQ ID NO:21), GSGG (SEQ ID NO:22), GSGG (SEQ ID NO:23), GSGG (SEQ ID NO:24), GGGG (SEQ ID NO:25) і GSSG (SEQ ID NO:26).

[00220] Додаткові гнучкі лінкери включають полімери гліцину (G)_n або полімери гліцин-серину (наприклад, (GS)_n, (GSGS)_n (SEQ ID NO:120), (GGGS)_n (SEQ ID NO:125) і (GGGS)_n (SEQ ID NO:126), де n може дорівнювати від 1 до 50, наприклад, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30, 30-50). Ілюстративні гнучкі лінкери включають, але не обмежуються зазначеним далі, GGGS (SEQ ID NO:19), GGGG (SEQ ID NO:20), GGSG (SEQ ID NO:21), GSGG (SEQ ID NO:22), GSGG (SEQ ID NO:23), GSGG (SEQ ID NO:24), GGGG (SEQ ID NO:25), і GSSG (SEQ ID NO:26). Мультимер (наприклад, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10-20, 20-30 або 30-50) цих лінкерних послідовностей може бути пов'язаний разом із метою забезпечення гнучких лінкерів, які можуть бути використані для кон'югування гетерологічної амінокислотної послідовності з поліпептидами, які описано в цьому документі. Як описано в цьому документі, гетерологічна амінокислотна послідовність може представляти собою сигнальну послідовність і/або партнер злиття, наприклад, альбумін, Fc-послідовність і т. п.

[00221] Приклади лінкерів включають, наприклад, (GGGS)_n (SEQ ID NO:126), де n представляє собою ціле число від 1 до близько 10 (наприклад, n=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або 10); GGGSGGGSIEGR (SEQ ID NO:48); GGGG (SEQ ID NO:27); EGGG (SEQ ID NO:28).

[00222] У деяких випадках лінкер може являти собою лінкер, який розщеплюється, наприклад, лінкер, який розщеплюється ферментативно. В інших випадках лінкер може являти собою лінкер, який не розщеплюється, наприклад, лінкер, який не піддається ферментативному розщепленню при нормальних фізіологічних умовах *in vivo*.

[00223] Наприклад, лінкер, який розщеплюється протеолітично, може містити сайт розщеплення металопротеїнази матриксу (MMP), наприклад, сайт розщеплення MMP, який обрано з колагенази-1, -2 і -3 (MMP-1, -8 і -13), желатінази A і B (MMP-2 і 9), стромелізіну 1, 2 і 3 (MMP-3, -10 і -11), матрилізіну (MMP-7) і мембранних металопротеїназ (MT1-MMP і MT2-MMP). Розщеплення послідовності MMP-9 являє собою Pro-X-X-Hy (де X являє собою довільний залишок; Hy - гідрофобний залишок) (SEQ ID NO:29), наприклад, Pro-X-X-Hy-(Ser/Thr) (SEQ ID NO:30), наприклад, Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr-Ser (SEQ ID NO:31) або Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr (SEQ ID NO:32). Ще один приклад сайту розщеплення протеази являє собою сайт розщеплення активатору плазміногену, наприклад, uPA або сайт розщеплення тканинного активатору плазміногену (tPA). Конкретні Приклади розщеплення послідовностей uPA і tPA включають послідовності, які містять Val-Gly-Arg. Ще одним прикладом є сайт розщеплення тромбіну, наприклад, CGLVPAGSGP (SEQ ID NO:33). Додаткові відповідні лінкери, які містять сайти розщеплення протеаз, включають лінкери, містять одну або більше з наступних амінокислотних послідовностей: 1) SLLKSRMVPNFN (SEQ ID NO:34) або SLLIARRMPNFN (SEQ ID NO:35), які розщеплюються катепсіном B; SKLVQASASGVN (SEQ ID NO:36) або SSVLKASDAPDN (SEQ ID NO:37), які розщеплюються протеазою вірусу Епштейна-Барр; RPKPQQFFGLMN (SEQ ID NO:38), яка розщеплюється MMP-3(стромелізином); SLRPLALWRSFN (SEQ ID NO:39), яка розщеплюється MMP-7 (матрилізином); SPQGIAGQRNFN (SEQ ID NO:40), яка розщеплюється MMP-9; DVDERDVRGFASFL (SEQ ID NO:41), яка розщеплюється термолізин-подібною MMP; SLPLGLWAPNFN (SEQ ID NO:42), яка розщеплюється металопротеїназою матриксу 2 (MMP-2); SLLIFRSWANFN (SEQ ID NO:43), яка розщеплюється катепсіном L; SGVVIATVIVIT (SEQ ID NO:44), яка розщеплюється катепсіном D; SLGPQGIWGQFN (SEQ ID NO:45), яка розщеплюється металопротеїназою матриксу 1 (MMP-1); KKSPGRVVGGSV (SEQ ID NO:46), яка розщеплюється активатором плазміногену урокіназного типу; PQGLLGAPGILG (SEQ ID NO:47), яка розщеплюється металопротеїназою матриксу 1 мембранного типу (MT-MMP); HGPEGLRVGFYESDVMGRGHARLVHVEEPHT (SEQ ID NO:94), яка розщеплюється стромелізином 3 (або MMP-11), термолізином, колагеназою фібробластів і стромелізином-1; GPQGLAGQRGIV (SEQ ID NO:49), яка розщеплюється металопротеїназою матриксу 13 (колагеназою-3); GSGGQRGRKALE (SEQ ID NO:50), яка розщеплюється активатором плазміногену тканинного типу (tPA); SLSALLSSDIFN (SEQ ID NO:51), яка розщеплюється простатоспецифічним антигеном людини; SLPRFKIIGGFN (SEQ ID NO:52), яка розщеплюється калікреїном (hK3); SLLGIAPGNFN (SEQ ID NO:53), яка розщеплюється еластазою нейтрофілів; і FFKNIVTPRTPP (SEQ ID NO:54), яка розщеплюється калпаїном (кальцій-активованою нейтральною протеазою).

[00224] На додаток до специфічних амінокислотних і нуклеотидних послідовностей, які представлено в цьому документі, опис також передбачає поліпептиди і нуклеїнові кислоти, які мають послідовності, які на щонайменше на 80 %, щонайменше на 85 %, щонайменше на 90 % або щонайменше на 95 % ідентичні послідовності амінокислот та нуклеїнових кислот. Терміни "ідентичний" або відсоток "ідентичності" в контексті двох або більше поліпептидних послідовностей, або двох чи більше амінокислотних послідовностей відносяться до двох або більше послідовностей або підпослідовностей, які є однаковими або мають певний відсоток амінокислотних залишків або нуклеотидів, які є однаковими (наприклад, щонайменше на 80 %, щонайменше на 85 %, щонайменше на 90 % або щонайменше на 95 % ідентичні в межах заданої ділянки) при порівнянні і вирівнюванні з урахуванням максимальної відповідності на заданій ділянці. Розкриття спеціально передбачає перший і другий поліпептид, присутній у комплексі, перший поліпептид і другий поліпептид, які мають амінокислотну послідовність, яка є на щонайменше 80 %, щонайменше 85 %, щонайменше 90 %, щонайменше 95 %, щонайменше 96 %, щонайменше 97 %, щонайменше 98 %, або щонайменше 99 % ідентичною послідовності амінокислотної послідовності першого і другого поліпептиду, відповідно, пар першого і другого поліпептиду, які представлено в цьому документі.

Способи отримання поліпептидів

[00225] Поліпептид згідно цього опису можна отримати будь-яким відповідним способом, у тому числі з використанням рекомбінантних і нерекомбінантних способів (наприклад, хімічного синтезу).

А. Хімічний синтез

[00226] Якщо поліпептид є хімічно синтезованим, синтез може йти в рідкій або твердій фазі. Твердофазний синтез пептидів (ТФСП) дозволяє включати не природні амінокислоти і/або модифікації каркасу пептиду/білка. Для синтезу поліпептидів згідно цього опису доступні різні форми ТФСП, наприклад, Fmoc і Boc. Подробиці хімічного синтезу відомі в цій галузі техніки (наприклад, Ganesan A. 2006 Mini Rev. Med. Chem. 6:3-10; і Camarero J. A. et al., 2005 Protein Pept Lett. 12:723-8).

В. Рекомбінантна продукція

[00227] Коли поліпептид виробляють з використанням рекомбінантних методик, поліпептид може бути отримано у вигляді внутрішньоклітинного білка або у вигляді білка, який секретується, з використанням будь-якої зручної конструкції і будь-якої підходящої клітини-хазяїна, яка може бути прокаріотичною або еукаріотичною клітиною, такою як бактеріальна (наприклад, *E. coli*) або дріжджова клітина-хазяїн, відповідно. Інші приклади еукаріотичних клітин, які можна використовувати в якості клітин-хазяїв, включають клітини комах, клітини ссавців і/або клітини рослин. У разі, коли використовуються клітини ссавців, вони також можуть включати в себе людські клітини (наприклад, клітини HeLa, 293, H9 і Jurkat); мишачі клітини (наприклад, NIH3T3, L клітини, і клітини C127); клітини приматів (наприклад, Cos 1, Cos 7 і CV1) і клітин китайського хом'ячка (наприклад, клітини яєчників китайського хом'яка (CHO). У конкретних варіантах реалізації винаходу, поліпептид і комплекси, які містять поліпептид, продукують у клітинах CHO. В інших варіантах реалізації винаходу, поліпептид і комплекси, які містять поліпептид, продукують у клітинах дріжджів, і в конкретних варіантах реалізації винаходу за допомогою генної інженерії можна отримати клітини дріжджів, які продукують глікопротеїни з N-гліканами, аналогічними N-гліканам ссавців.

[00228] Різні системи хазяїн-вектор, які придатні для експресії поліпептиду, можна використовувати відповідно зі стандартними процедурами, відомими в цій галузі техніки. Див., наприклад, Sambrook та ін., 1989 Current Protocols in Molecular Biology Cold Spring Harbor Press, New York; і Ausubel та ін., 1995 Current Protocols in Molecular Biology, Eds. Wiley and Sons. Способи введення генетичного матеріалу в клітині-хазяїні включають, наприклад, трансформацію, електропорацію, кон'югацію, способи з використанням фосфату кальцію та інші. Можна обрати спосіб переносу, який забезпечує стабільну експресію введеної нуклеїнової кислоти, яка кодує поліпептид. Нуклеїнову кислоту, яка кодує поліпептид, можна представити у вигляді успадкованого епісомального елемента (наприклад, плазміди), або можна інтегрувати в геном. Доступні для придбання різні вектори, які є придатними для використання при продукції досліджуваного поліпептиду.

[00229] Вектори можуть існувати екстрахромосомно в клітині-хазяїні або інтегруватися в геном клітини-хазяїна. Експресуючий вектор містить регуляторні послідовності транскрипції і трансляції, і може забезпечити індукцибельну або конститутивну експресію, де кодуєчу ділянку функціонально зв'язано і вона знаходиться під транскрипційним контролем ділянки ініціації транскрипції, і ділянки термінації транскрипції і трансляції. В цілому, регуляторні послідовності транскрипції і трансляції можуть включати, але не обмежуючись зазначеним далі, послідовності

промоторів, сайти зв'язування рибосом, послідовності ініціації та припинення транскрипції, послідовності ініціації та припинення трансляції і послідовності енхансерів або активаторів. Промотори можуть бути або конститутивними, або індукцибельними, а також можуть бути сильними конститутивними промоторами (наприклад, T7).

[00230] Експресуючі конструкти зазвичай містять зручні сайти рестрикції, розташовані поблизу послідовності промотору для забезпечення вбудовування нуклеотидних послідовностей, які кодують досліджувані білки. Селективний маркер, який працює в хазяїні, який експресує, може бути присутнім для полегшення селекції клітин, які містять вектор. Крім того, експресуючий конструкт може містити додаткові елементи. Наприклад, експресуючий вектор може містити одну або дві системи реплікації, що дозволяє йому здійснювати експресію в організмах, наприклад, у клітинах ссавців та комах і клонування та ампліфікацію в прокаріотичному хазяїні. Крім того, експресуючий конструкт може містити селективний маркерний ген, що забезпечує селекцію трансформованих клітин-хазяїв. Селективні гени добре відомі в цій галузі техніки і залежать від використовуваних клітин-хазяїв.

[00231] Виділення та очищення білка можна виконати у відповідності зі способами, відомими в цій галузі техніки. Наприклад, білок можна виділити з лізату клітин, які генетично модифіковані для конститутивної і/або індукцибельної експресії білка; з культурального середовища, в якому клітина-хазяїна було вирощено; або із синтетичної реакційної суміші, за допомогою афінної очистки, яка може включати в себе контактування зразка (лізату клітин, культурального середовища або реакційної суміші) з міткою, яка специфічно зв'язується з білком, з наступним промиванням для видалення неспецифічно зв'язаного матеріалу, і елюванням специфічно зв'язаного білка. Виділений білок можна додатково очистити з допомогою діалізу та інших способів, зазвичай використовуваних способах очищення білка. В одному варіанті реалізації винаходу білок можна виділити з використанням способів металохелатної хроматографії. Білки можуть містити модифікації, які полегшують виділення. У певних варіантах реалізації винаходу, комплекси згідно цього опису можуть бути розділені в залежності від розміру.

[00232] У певних варіантах реалізації винаходу, комплекс, який містить перший поліпептид і другий поліпептид, перший поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить CH3 послідовність, яка містить щонайменше одне сконструйоване вип'ячування; другий поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить CH3 послідовність, яка містить щонайменше одну сконструйовану западину; де перший поліпептид димеризується з другим поліпептидом допомогою позиціонування вип'ячування першого поліпептиду в западину другого поліпептиду, де або С-кінець першого поліпептиду, або С-кінець другого поліпептиду кон'юговано з N-кінцем мутеїна GDF15, який містить щонайменше один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання, може бути виділений з середовища, в якому культивується клітина-хазяїн, яка експресує перший і другий поліпептиди.

[00233] У певних варіантах реалізації винаходу, комплекс, який містить перший гетеродимер і другий гетеродимер, кожен з першого і другого гетеродимерів, містять перший поліпептид і другий поліпептид, перший поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить послідовність CH3, яка містить щонайменше одне сконструйоване вип'ячування; другий поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить послідовність CH3, яка містить щонайменше одну сконструйовану западину; де перший поліпептид димеризується з другим поліпептидом за допомогою позиціонування вип'ячування першого поліпептиду в западину другого поліпептиду, де або С-кінець першого поліпептиду, або С-кінець другого поліпептиду кон'юговано з N-кінцем мутеїна GDF15, який містить щонайменше один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання, де мутеїн GDF15 в першому гетеродимері димеризується з мутеїном GDF15 у другому гетеродимері тим самим формуючи комплекс, який містить перший гетеродимер і другий гетеродимер, може бути виділений з середовища, в якому культивується клітина-хазяїн, яка експресує перший і другий поліпептиди.

[00234] Як зазначається в цьому документі, перша і друга нуклеїнові кислоти можуть бути присутніми в одному векторі або окремих векторах в одній клітині-хазяїні або двох різних клітинах-хазяїнах. У певних випадках, перший і другий поліпептиди цього опису можуть бути кодовані за допомогою першої та другої нуклеїнових кислот, відповідно, які можуть бути експресовані в одній і тій же клітині. У варіантах реалізації винаходу, де перша та друга нуклеїнові кислоти присутні в різних клітинах, клітини можуть бути злиті в якийсь момент часу в процесі виробництва.

[00235] Комплекси можна отримати практично у чистому вигляді або у виділеній формі (наприклад, яка не містить інших поліпептидів). Комплекси можуть бути присутніми в композиції,

збагаченої комплексами по відношенню до інших компонентів, які можуть бути присутніми в ній (наприклад, інших поліпептидів або інших комплексів (наприклад, гомодимерів, гомотетрамерів) або інших компонентів клітини-хазяїна). Наприклад, очищений комплекс (наприклад, гетеродимер-гетеродимерний комплекс) можна отримати таким чином, що комплекс присутній в композиції, яка практично не містить інших експресованих білків, наприклад, менше ніж 90 %, менше ніж 60 %, менше ніж 50 %, менше ніж 40 %, менше ніж 30 %, менше ніж 20 %, менше ніж 10 %, менше ніж 5 % або менше ніж 1 % композиції складається з інших експресованих білків.

Антитіла

[00236] В цьому описі запропоновано антитіла, в тому числі виділені антитіла, які специфічно зв'язують поліпептид або злитий білок відповідно до цього опису. Термін "антитіло" охоплює інтактні моноклональні антитіла, поліклональні антитіла, поліспецифічні антитіла (наприклад, біспецифічні антитіла), які утворені з щонайменше двох інтактних антитіл, і які зв'язують фрагменти антитіл, включаючи Fab і F(ab')₂, за умови, що вони проявляють бажану біологічну активність. Найпростіша структурна одиниця цілого антитіла містить тетрамер, і кожен тетрамер складається з двох ідентичних пар поліпептидних ланцюгів, кожна пара має один "легкий" ланцюг (близько 25 кДа) і один "важкий" ланцюг (близько 50-70 кДа). Амінокінцева область кожного ланцюга містить варіабельну ділянку від близько 100 до 110 або більше амінокислот, головним чином відповідальну за розпізнавання антигену. Навпаки, карбокси-кінцева частина кожного ланцюга визначає константну ділянку, головним чином відповідальну за ефекторну функцію. Легкі ланцюги людини поділяються на каппа і лямбда, в той час як важкі ланцюги людини поділяються на мю, дельта, гама, альфа або епсилон і визначають ізотип антитіла як IgG, IgM, IgA, IgD і IgE, відповідно. Фрагменти, які зв'язують, отримують за допомогою методик рекомбінантних ДНК, або шляхом ферментативного або хімічного розщеплення інтактних антитіл. Фрагменти, які зв'язують, включають Fab, Fab', F(ab')₂, Fv і одноланцюгові антитіла.

[00237] На одному кінці кожного важкого ланцюга знаходиться варіабельний домен (VH), а потім - ряд константних доменів. На одному кінці кожного легкого ланцюга знаходиться варіабельний домен (VL), а на іншому кінці - константний домен; константний домен легкого ланцюга вирівняно з першим константним доменом важкого ланцюга, а варіабельний домен легкого ланцюга вирівняно з варіабельним доменом важкого ланцюга. В межах легкого і важкого ланцюга варіабельні та константні ділянки з'єднуються за допомогою "J" ділянки із близько 12 або більше амінокислот, з важким ланцюгом, який також містить "D" ділянку із близько 10 або більше амінокислот. Всі ланцюги антитіла володіють аналогічною загальною структурою щодо консервативних каркасних ділянок (FR), які сполучено трьома гіперваріабельними ділянками, також званими "ділянками, які визначають комплементарність", або "CDR". CDR із двох ланцюгів кожної пари вирівняно за допомогою каркасних ділянок, що дозволяє зв'язуватися зі специфічним епітопом. Від N-кінця до C-кінця як важкі, так і легкі ланцюги містять домени FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 і FR4.

[00238] Інтактне антитіло має два сайти зв'язування і, за винятком біфункціональних або біспецифічних антитіл, зазначені два сайти зв'язування є ідентичними. Біспецифічне або біфункціональне антитіло є штучним гібридним антитілом, яке містить дві пари різних важких/легких ланцюгів і два різних сайти зв'язування. Біспецифічні антитіла можна отримувати різними способами, в тому числі шляхом злиття гібридом або зв'язування фрагментів Fab'.

[00239] Як зазначено вище, фрагменти, які зв'язують, можна отримати шляхом ферментативного або хімічного розщеплення інтактних антитіл. Розщеплення антитіл ферментом папаїном призводить до отримання двох ідентичних антиген-зв'язуючих фрагментів, також відомих як "Fab"-фрагменти, і "Fc"-фрагмента, який не володіє антигензв'язуючою активністю. Розщеплення антитіл ферментом пепсином призводить до отримання F(ab')₂ фрагмента, в якому обидва плеча молекули антитіла залишаються пов'язаними і містять два антигензв'язуючих сайти. F(ab')₂ фрагмент має здатність перехресно зв'язувати антиген.

[00240] Термін "Fab", який використовується в цьому документі, відноситься к фрагменту антитіла, яке містить VH- і VL-ділянки, а також константний домен легкого ланцюга і CH1-домен важкого ланцюга.

[00241] Термін "Fv", який використовується в цьому документі, відноситься до мінімального фрагменту антитіла, яке зберігає як антигенрозпізнаючий, так і антигензв'язуючий сайти. У дволанцюгових різновидах Fv ця ділянка містить димер одного варіабельного домену важкого ланцюга і одного варіабельного домену легкого ланцюга, які з'єднані нековалентним зв'язком. У одноланцюгових різновидах Fv один варіабельний домен важкого ланцюга і один варіабельний домен легкого ланцюга можуть бути ковалентно зв'язані гнучким пептидним лінкером таким чином, що легкий та важкий ланцюги можуть утворювати "димерну" структуру, аналогічну

структурі дволанцюгових різновидів Fv. Саме в цій конфігурації три CDR кожного варіабельного домену взаємодіють з утворенням антигензв'язуючого сайту на поверхні димера VH-VL. Хоча шість CDR спільно надають антитілу антигензв'язуючу специфічність, навіть один варіабельний домен (або половина Fv, яка містить тільки три CDR, специфічних по відношенню до антигену) має здатність розпізнавати і зв'язувати антиген.

[00242] Термін "ділянки, які визначають комплементарність" або "CDR", який використовується в цьому документі, відноситься до частин імунологічних рецепторів, які контактують зі специфічним лігандом і визначають його специфічність.

[00243] Термін "гіперваріабельна ділянка" відноситься до амінокислотним залишкам антитіла, які відповідають за зв'язування антигену. Гіперваріабельна ділянка зазвичай містить амінокислотні залишки з CDR і/або залишки з "гіперваріабельної петлі".

[00244] Термін "епітоп", який використовується в цьому документі, відноситься до антитілозв'язуючих сайтів білкових антигенів. Епітопні детермінанти зазвичай містять хімічно активні поверхневі групи молекул, наприклад, амінокислоти або вуглеводні бічні ланцюги, а також володіють специфічними тривимірними структурними і зарядовими характеристиками. Кажуть, що антитіло зв'язується з антигеном, якщо константа дисоціації становить ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ або ≤ 10 нМ. Більша константа рівноваги (" K_D ") значить меншу спорідненість між епітопом і антитілом, в той час як менша константа рівноваги значить більшу спорідненість між епітопом і антитілом. Антитіло з K_D "не більше" певного значення означає, що антитіло повинно зв'язуватися з епітопом із заданою K_D або сильніше. Тоді як K_D описує характеристики зв'язування епітопу і антитіла, "специфічна активність" характеризує ефективність самого антитіла по відношенню до функції антитіла. Кореляція між константою рівноваги і специфічною активністю не є обов'язковою; так, наприклад, відносно низька K_D не обов'язково передбачає високу специфічну активність.

[00245] Термін "селективно зв'язується" по відношенню до антитіла ще не означає, що антитіло зв'язується тільки з однією речовиною, а те, що K_D антитіла по відношенню до першої речовини менше, ніж K_D антитіла по відношенню до другої речовини. Антитіло, виключно зв'язується з епітопом, зв'язується тільки з єдиним епітопом.

[00246] При введенні в організм людини антитіла, які містять варіабельні і/або константні області, характерні для гризунів (тобто миші або щурів), іноді асоціюються з, наприклад, швидким виведенням з організму або формуванням імунної відповіді організму проти антитіла. Для того щоб уникнути використання антитіл, що походять від гризунів, можна отримати цілком людські антитіла шляхом введення функції людського антитіла в організм гризуна таким чином, щоб гризун продукував повністю людські антитіла. Якщо це спеціально не зазначено в цьому документі, антитіла "людини" і "повністю людські" антитіла можна використовувати як взаємозамінні. Термін "повністю людське" можна використовувати при визначенні антитіл, які є лише частково людськими, на відміну від повністю людських антитіл. Досвідченому фахівцю відомо про різні способи отримання повністю людських антитіл.

[00247] Для того щоб не допустити можливої відповіді організму людини на антитіла миші, можна використовувати химерні або іншим чином гуманізовані антитіла. Химерні антитіла містять константну ділянку, характерну для людини, і варіабельну ділянку, характерну для миші, і тому у деяких пацієнтів може спостерігатися відповідь на химерні антитіла людини. Таким чином, доцільно отримати повністю людські антитіла проти мультимерних ферментів, щоб уникнути можливої відповіді організму людини на антитіла миші або химерні антитіла.

[00248] Повністю людські моноклональні антитіла можна отримати, наприклад, шляхом утворення ліній гібридом них клітин за допомогою способів, відомих фахівцю у цій галузі техніки. Інші способи отримання припускають використання послідовностей, які кодують специфічні антитіла для трансформації відповідної клітини-хазяїна ссавця, наприклад, клітини CHO. Трансформацію можна здійснити будь-яким відомим способом введення полінуклеотидів у клітину-хазяїна, включаючи, наприклад, упаковку полінуклеотиду у вірус (або вірусний вектор) і трансдукції клітини-хазяїна з вірусом (або вектором), або за допомогою процедур трансфекції, відомих у цій галузі техніки. Способи введення гетерологічних полінуклеотидів у клітини ссавців добре відомі в цій галузі техніки і включають декстран-опосередковану трансфекцію, преципітацію з фосфатом кальцію, полібрен-опосередковану трансфекцію, злиття протопластів, електропорацію, інкапсуляцію полінуклеотида(ів) у ліпосоми і пряму мікроін'єкцію ДНК в ядра. Лінії клітин ссавців, доступні в якості хазяїв для експресії, добре відомі в цій галузі техніки і включають, але не обмежуються зазначеним далі, клітини CHO, клітини HeLa і клітини гепатоцелюлярної карциноми людини.

[00249] Антитіла можуть бути використані для виявлення поліпептиду відповідно до цього опису. Наприклад, антитіла можна використовувати в якості діагностичного засобу через

виявлення рівня одного або більше з поліпептидів згідно цього опису у суб'єкта, і порівняння виявленого рівня зі стандартним контрольним рівнем або з вихідним рівнем в організмі суб'єкта, який було визначено раніше (наприклад, до захворювання).

Терапевтичне і профілактичне застосування

5 [00250] Цей винахід забезпечує способи лікування або профілактики метаболічних та асоційованих з метаболізмом захворювань, наприклад, ожиріння та інших розладів маси тіла, гіперглікемії, гіперінсулінемії, порушення сприйнятливості глюкози, а також порушень метаболізму глюкози, шляхом введення комплексу цього опису або його композицій, які описано в цьому документі. Такі способи також можуть надавати сприятливий вплив на один або більше
10 симптомів, які асоційовано із захворюванням, розладом або станом, наприклад, знижуючи тяжкість або частоту прояву симптому.

[00251] Щоб визначити, чи є суб'єкт кандидатом для лікування або профілактики розладу маси тіла (наприклад, ожиріння) за допомогою способів, які представлено в цьому документі, слід виконати оцінку таких параметрів, як, але не обмежуючись зазначеним далі, етіологія і
15 ступінь стану суб'єкта (наприклад, наскільки надлишкова маса тіла суб'єкта порівняно зі здоровим індивідом). Наприклад, можна вважати, що дорослий суб'єкт з IMT між ~ 25 і $\sim 29,9$ кг/м² страждає надмірною вагою (передожирінням), в той час як дорослий суб'єкт з IMT ~ 30 кг/м² або вище страждає ожирінням. Як обговорювалося в цьому документі, комплекс згідно цього винаходу може пригнічувати апетит, наприклад, знижувати апетит, приводячи до
20 зменшення маси тіла.

[00252] Щоб визначити, чи є суб'єкт кандидатом для лікування або профілактики гіперглікемії, гіперінсулінемії, порушення сприйнятливості глюкози і/або порушень метаболізму глюкози з допомогою запропонованих у цьому документі способів, можна використовувати різні діагностичні способи, відомі в цій галузі техніки. Такі способи включають способи, які описано в
25 інших розділах цього документу (наприклад, оцінку рівня глюкози в плазмі натще (FPG) та пероральний тест сприйнятливості глюкози (oGTT)).

[00253] Комплекси, передбачені в цьому документі, при введенні суб'єкту для лікування або профілактики метаболічних та асоційованих з метаболізмом захворювань, наприклад, ожиріння та інших розладів маси тіла, гіперглікемії, гіперінсулінемії, порушення сприйнятливості глюкози, порушень метаболізму глюкози можуть призвести до зменшення рівня глюкози в крові, зменшення маси тіла і/або зменшення споживання їжі.
30

[00254] У певних варіантах реалізації винаходу, комплекси, які розглядаються в цьому документі, можуть знижувати рівень глюкози в крові, масу тіла і/або споживання їжі щонайменше на 5 % порівняно з зазначеними показниками у відсутності введення комплексів. Наприклад, комплекси, які розглядаються в цьому документі, можуть знижувати рівень глюкози в крові, масу тіла і/або споживання їжі щонайменше на 10 %, 20 %, 30 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % або 90 % порівняно зі станом до початку лікування або профілактики.
35

[00255] У певних варіантах реалізації винаходу, комплекс згідно цього винаходу, який використовують для лікування метаболічного порушення, може бути комплексом, який містить
40 дві молекули гетеродимеру на комплекс, де кожен гетеродимер є однаковим, і містить перший поліпептид і другий поліпептид, де перший поліпептид містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG може містити послідовність CH3, яка містить щонайменше одне сконструйоване вип'ячування; другий поліпептид, який містить Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить послідовність CH3, яка містить щонайменше одну сконструйовану
45 западину; причому перший поліпептид димерізується з другим поліпептидом за допомогою позиціонування вип'ячування першого поліпептиду у западину другого поліпептиду формуючи гетеродимер, причому або С-кінець першого поліпептиду, або С-кінець другого поліпептиду в кожному гетеродимері кон'юговано з N-кінцем мутеїна GDF15, який містить щонайменше один консенсусний сайт N-зв'язаного глікозилювання, причому мутеїн GDF15 в гетеродимері
50 димерізується з мутеїном GDF15 у другому гетеродимері тим самим формуючи комплекс, який містить, два гетеродимера.

[00256] В інших варіантах реалізації винаходу, комплекс згідно цього винаходу, який використовують для лікування метаболічного порушення, може бути комплексом, який містить
55 дві молекули гетеродимера (гетеродимер, зв'язаний з гетеродимером) на комплекс, де кожен гетеродимер є однаковим, і кожен гетеродимер містить перший поліпептид, який має Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG може містити послідовність CH3, яка містить щонайменше одне сконструйоване вип'ячування, де С-кінець першого поліпептиду злито з N-кінцем глікомутеїну GDF15; і другий поліпептид, який має Fc-послідовність IgG, при цьому Fc-послідовність IgG містить послідовність CH3, яка містить щонайменше одну сконструйовану
60 западину; причому перший поліпептид димерізується з другим поліпептидом за допомогою

позиціонування вип'ячування першого поліпептиду у западину другого поліпептиду формуючи гетеродимер, причому мутеїн GDF15 в гетеродимері димерізується з мутеїном GDF15 у другому гетеродимері тим самим формуючи комплекс, який містить два гетеродимера.

Фармацевтичні композиції

[00257] Комплекси по цьому опису можуть перебувати у вигляді композицій, придатних для введення суб'єкту. В цілому, такі композиції являють собою "фармацевтичні композиції", які містять один або більше з комплексів і один або більше з фармацевтично прийнятних або фізіологічно прийнятних розріджувачів, носіїв або допоміжних речовин. У певних варіантах реалізації винаходу, комплекси присутні в терапевтично ефективній кількості у фармацевтичній композиції. Фармацевтичні композиції можна використовувати в способах відповідно до даного опису; так, наприклад, фармацевтичні композиції можна вводити *ex vivo* або *in vivo* суб'єкту з метою здійснення терапевтичних і профілактичних способів і способів, які описано в цьому документі. Як зазначено в цьому документі, комплекси можуть бути або можуть не бути глікозильовані. Наприклад, комплекси можуть бути глікозильовані, в процесі продукування у еукаріотичній клітині-хазяїні, і можуть бути піддані процесу видалення вуглеводного фрагменту до внесення у фармацевтичну композицію. Видалення вуглеводних фрагментів може призвести до значного зменшення глікозильовання поліпептидів в комплексах або повної відсутності глікозильовання поліпептидів в комплексах.

[00258] У конкретних варіантах реалізації винаходу, цей опис забезпечує способи лікування порушення метаболізму глюкози або маси тіла шляхом введення комплексів, N-глікозильованих комплексів або їх композицій. У конкретному варіанті реалізації винаходу, цей опис забезпечує способи зменшення споживання їжі або зменшення маси тіла шляхом введення комплексів, N-глікозильованих комплексів або їх композицій. Цей опис додатково забезпечує використання вищевказаних послідовностей, комплексів, N-глікозильованих комплексів або їх композицій при виробництві лікарського засобу для застосування в лікуванні стану, обраного з метаболічних і асоційованих з метаболізмом захворювань, наприклад, ожиріння та інших розладів маси тіла, гіперглікемії, гіперінсулінемії, порушення сприйнятливості глюкози, а також порушень метаболізму глюкози. Цей опис додатково забезпечує використання вищевказаних послідовностей, комплексів, N-глікозильованих комплексів або їх композицій при виробництві лікарського засобу для застосування в лікуванні порушень метаболізму глюкози та маси тіла. Цей опис додатково забезпечує використання вищевказаних послідовностей, комплексів, N-глікозильованих комплексів або їх композицій при виробництві лікарського засобу, який використовується для зменшення споживання їжі або маси тіла.

[00259] Також в цьому документі представлено композиції, наприклад, фармацевтичні композиції послідовностей, комплексів і N-глікозильованих комплексів, які описано в цьому документі, для лікування або запобігання станів, пов'язаних з деякими з метаболічними та асоційованими з порушенням метаболізму захворювань, наприклад, ожиріння та інших розладів маси тіла, гіперглікемії, гіперінсулінемії, порушення сприйнятливості глюкози і порушення метаболізму глюкози. Цей опис додатково забезпечує композицію (наприклад, фармацевтичну композицію) з вищевказаних послідовностей, комплексів, N-глікозильованих комплексів для лікування порушень метаболізму глюкози та маси тіла. Цей опис додатково забезпечує композицію (наприклад, фармацевтичну композицію) з вищевказаних послідовностей, комплексів, N-глікозильованих комплексів для зменшення споживання їжі або маси тіла.

[00260] Фармацевтичні композиції згідно цьому опису можуть бути складені з урахуванням сумісності з передбачуваним способом або шляхом введення; типові шляхи введення викладено в цьому документі. Крім того, фармацевтичні композиції можна використовувати в комбінації з іншими терапевтично активними агентами або сполуками (наприклад, агентами, які знижують рівень глюкози), які описано в цьому документі, з метою лікування або профілактики захворювань, розладів і станів, що розглядаються в цьому описі.

[00261] Фармацевтичні композиції зазвичай містять терапевтично ефективну кількість принаймні одного з комплексів, розглянутих у цьому винаході, і один або більше з фармацевтично і фізіологічно прийнятних агентів для отримання складу. Відповідні фармацевтично або фізіологічно прийнятні розріджувачі, носії або наповнювачі включають, але не обмежуються зазначеним далі, антиоксиданти (наприклад, аскорбінову кислоту і бісульфіт натрію), консерванти (наприклад, бензиловий спирт, метилпарабени, етил аболи n-пропіл, p-гідроксибензоат), емульгуючі агенти, суспендуючі агенти, диспергуючі агенти, розчинники, наповнювачі, об'ємоутворюючі агенти, детергенти, буфери, несучі середовища, розріджувачі і/або допоміжні речовини. Наприклад, відповідний носій може представляти собою фізіологічний сольовий розчин або цитрат-сольовий буфер, можливо, з додаванням інших матеріалів, які часто зустрічаються у фармацевтичних композиціях для парентерального введення.

Нейтральний сольовий буферний розчин або фізіологічний розчин, змішані з сироватковим альбуміном, являють собою додаткові типові носії. Фахівці в цій галузі техніки можуть легко розпізнавати різні буфери, які можна використовувати у фармацевтичних композиціях і лікарських формах. Типові буфери включають, але не обмежуються зазначеним далі, 5 фармацевтично прийнятні слабкі кислоти, слабкі основи або їх суміші. Наприклад, компоненти буфера можуть являти собою водорозчинні матеріали, наприклад, фосфорну кислоту, винну кислоту, молочну кислоту, бурштинову кислоту, лимонну кислоту, оцтову кислоту, аскорбінову кислоту, аспарагінову кислоту, глутамінову кислоту та їх солі. Прийнятні буферні агенти включають, наприклад, буфер Трис, N-(2-гідроксіетил)піперазин-N'-(2-етансульфонову кислоту) (HEPES), 2-(N-морфоліно)етансульфонову кислоту (MES), натрієву сіль 2-(N-морфоліно)етансульфонової кислоти (MES), 3-(N-морфоліно) пропансульфонову кислоту (MOPS) і N-трис[гідроксиметил]метил-3-амінопропансульфонову кислоту (СТА).

[00262] Після складання фармацевтичної композиції її можна зберігати в стерильних флаконах у вигляді розчину, суспензії, гелю, емульсії, твердого тіла або зневодненого або ліофілізованого порошку. Такі суміші можна зберігати у вигляді готової до використання форми, ліофілізованої форми, яка потребує відновлення перед використанням, рідкої форми, яка потребує розведення перед використанням, або іншої прийнятої форми. У деяких варіантах реалізації винаходу запропоновано фармацевтичну композицію у одноразовому контейнері (наприклад, одноразовому флаконі, ампулі, шприці або автоматичному інжекторі (наприклад, EpiPen®)), в той час як в інших варіантах реалізації винаходу запропоновано багаторазовий контейнер (наприклад, багаторазовий флакон). Для доставки комплексів можна використовувати будь-який апарат для доставки ліків, у тому числі імпланти (наприклад, імплантовані насоси) і катетерні системи, які добре відомі фахівцям. Ін'єкції речовин уповільненого всмоктування, які зазвичай вводять підшкірно або внутрішньом'язово, можна також використовувати для вивільнення комплексів, які описано в цьому документі, протягом певного часу. Ін'єкції речовин уповільненого всмоктування, як правило, складені на твердій або масляній основі і в загальному випадку містять щонайменше один з компонентів складу, викладених у цьому документі. Фахівець в цій галузі техніки повинен бути знайомий з можливими складами і варіантами застосування ін'єкцій речовин уповільненого всмоктування.

[00263] Фармацевтичні композиції можуть перебувати у формі стерильної водної або масляної суспензії для ін'єкцій. Цю суспензію можна скласти у відповідності зі способами, відомими в цій галузі техніки, використовуючи відповідні диспергуючі агенти або зволожувачі і суспендуєчі агенти, згадані в цьому документі. Стерильний препарат для ін'єкцій також може являти собою стерильний розчин або суспензію для ін'єкцій у нетоксичному прийнятному для парентерального застосування розчиннику або розчиннику, наприклад, як розчин у 1,3-бутандіолі. Прийнятні розріджувачі, розчинники та диспергуючі середовища, які можна використовувати, включають воду, розчин Рінгера, ізотонічний розчин хлориду натрію, Cremophor EL™ (BASF, Парсіпанні, штат Нью-Джерсі, США) або фосфатний буферний сольовий розчин (PBS), етанол, поліол (наприклад, гліцерин, пропіленгліколь і рідкий поліетиленгліколь) та їх відповідні суміші. Крім того, стерильні нелеткі олії традиційно застосовують в якості розчинника або середовища для суспендування. З цією метою можна використовувати будь-яке м'яке нелетке масло, в тому числі синтетичні моно- або дигліцериди. Крім того, при отриманні розчинів для ін'єкцій знаходять застосування жирні кислоти, наприклад, олеїнова кислота. Пролонговане всмоктування конкретних ін'єкційних композицій можна забезпечити шляхом включення агента, який уповільнює всмоктування (наприклад, моностеарату алюмінію або желатину).

[00264] Фармацевтичні композиції, які містять активний інгредієнт (наприклад, комплекси згідно цього опису), можуть перебувати у формі, придатній для перорального застосування, наприклад, таблеток, капсул, пастилок, ледяників, водних або масляних суспензій, диспергуємих порошків або гранул, емульсій, твердих або м'яких капсул або сиропів, розчинів, мікрогранул або еліксирів. Фармацевтичні композиції для перорального застосування отримують відповідно до будь-якого способу, відомого в цій галузі техніки для отримання фармацевтичних композицій, і такі композиції можуть містити один або більше з таких агентів, як підсолоджувачі, ароматизатори, барвники і консерванти, з метою отримання фармацевтично вишуканих і приємних на смак препаратів. Таблетки, капсули і т. п. містять активний інгредієнт в суміші з нетоксичними фармацевтично прийнятними допоміжними речовинами, придатними для виготовлення таблеток. Такі допоміжні речовини можуть являти собою, наприклад, розчинники, наприклад, карбонат кальцію, карбонат натрію, лактозу, фосфат кальцію або фосфат натрію; гранулюючі агенти і розпушувачі, наприклад, кукурудзяний крохмаль або альгінову кислоту; зв'язувальні агенти, наприклад, крохмаль, желатин або гуміарабік; і ковзаючі агенти, наприклад

магнію стеарат, стеаринову кислоту або тальк.

[00265] Таблетки, капсули і т. п., придатні для перорального введення, можуть не містити покриття або покриті відомими способами для уповільнення розпаду та всмоктування в шлунково-кишковому тракті, тим самим забезпечуючи пролонговану дію. Наприклад, можна застосовувати матеріал з відстроченим вивільненням, наприклад, гліцерілмоностеарат або гліцерілдистеарат. На них також можна нанести покриття згідно з методиками, відомим в цій галузі техніки, з метою формування осмотичних терапевтичних таблеток з контрольованим вивільненням. Додаткові агенти включають біорозкладані або біосумісні частинки або полімерні речовини, наприклад, поліефіри, поліамінокислоти, гідрогель, полівінілпіролідон, поліангідриди, полігліколеву кислоту, етиленвінілацетат, метилцелюлозу, карбоксиметилцелюлозу, сульфат протаміну або лактид/гліколідні сополімери, полілактид/гліколідні сополімери або сополімери етиленвінілацетату, для контролю доставки введеної композиції. Наприклад, агент для перорального застосування можна включити в мікрокапсули, отримані за допомогою методик коацервації або міжфазної полімеризації, з використанням гідроксиметилцелюлозних або желатинових мікрокапсул або мікрокапсул полі(метилметакрилату), відповідно, або в колоїдну систему доставки лікарських засобів. Колоїдні дисперсійні системи включають макромолекулярні комплекси, нанокпсули, мікросфери, мікрогранули і системи на основі ліпідів, в тому числі емульсії типу "масло у воді", міцели, змішані міцели і ліпосоми. Способи одержання ліпосом описані, наприклад, в патенті США № 4235871, 4501728 і 4837028. Способи отримання вищезазначених складів зрозумілі для фахівців в цій галузі техніки.

[00266] Склади для перорального застосування можуть бути представлені у вигляді твердих желатинових капсул, де активний інгредієнт змішано з інертним твердим розчинником, наприклад, карбонатом кальцію, фосфатом кальцію або каоліном або мікрокристалічною целюлозою, або у вигляді м'яких желатинових капсул, де активний інгредієнт змішано з водним або масляним середовищем, наприклад, арахісовим маслом, рідким парафіном або оливковою олією.

[00267] Водні суспензії містять активні матеріали в суміші з допоміжними речовинами, придатними для їх виробництва. Такі допоміжні речовини можуть являти собою суспендуючі агенти, наприклад, карбоксиметилцелюлозу натрію, метилцелюлозу, гідроксипропілметилцелюлозу, альгінат натрію, полівінілпіролідон, трагакантову камедь і гуміарабік; диспергуючі агенти або зволожувачі, наприклад, природні фосфатиди (наприклад, лецитин), або продукти конденсації алкіленоксиду з жирними кислотами (наприклад, поліоксіетиленстеарат), або продукти конденсації етиленоксиду з довголанцюговими аліфатичними спиртами (наприклад, гептадекаетиленоксидетанол), або продукти конденсації етиленоксиду з неповними ефірами – похідними жирних кислот і гекситу (наприклад, поліоксіетиленсорбітанмоноолеат) або продукти конденсації етиленоксиду з неповними ефірами - похідними жирних кислот і ангідридів гекситу (наприклад, поліетиленсорбітанмоноолеат). Водні суспензії можуть також містити один або більше з консервантів.

[00268] Масляні суспензії можна скласти шляхом суспендування активного інгредієнта в рослинному маслі, наприклад, арахісовій олії, оливковій олії, кунжутній олії або кокосовому маслі, або в мінеральному маслі, наприклад, рідкому парафіні. Масляні суспензії можуть містити загусник, наприклад, бджолиний віск, твердий парафін або цетиловий спирт. Підсолоджувачі, наприклад, які представлено вище, і ароматизатори можна додавати для отримання приємного на смак препарату для перорального застосування.

[00269] Диспергуємі порошки і гранули для отримання водної суспензії шляхом додавання води містять активний інгредієнт в суміші з диспергуючим агентом або зволожувачем, суспендуючим агентом і одним або більше з консервантів. Підходящі диспергуючі агенти або зволожувачі і суспендуючі агенти наведені в цьому документі.

[00270] Фармацевтичні композиції згідно цього опису можуть також перебувати у вигляді емульсій "масло у воді". Масляна фаза може являти собою рослинну олію, наприклад, оливкову олію або арахісову олію, або мінеральне масло, наприклад, рідкий парафін або їх суміші. Підходящі емульгатори можуть являти собою природні камеді, наприклад, гуміарабік або трагакантову камедь; природні фосфатиди, наприклад, фосфатиди сої, лецитин та ефіри або неповні ефіри – похідні жирних кислот; ангідриди гекситу, наприклад, сорбітанмоноолеат; і продукти конденсації неповних ефірів з етиленоксидом, наприклад, поліоксіетиленсорбітанмоноолеат.

[00271] Суміші також можуть містити носії для захисту композиції від швидкого розкладання або виведення з організму, наприклад, суміші з контрольованим вивільненням, у тому числі імплантати, ліпосоми, гідрогелі, проліки або мікрокапсульовані системи доставки. Наприклад, можна застосовувати матеріал з відстроченим вивільненням, наприклад, гліцерілмоностеарат

або гліцерілстеарат окремо або в комбінації з воском.

[00272] Цей опис передбачає введення комплексів у вигляді супозиторіїв для ректального введення лікарської речовини. Супозиторії можна отримати шляхом змішування лікарської речовини з відповідним не дратуючою допоміжною речовиною, твердою при звичайних температурах, але рідкою при ректальній температурі, яке, таким чином, буде плавитися в прямій кишці, вивільняючи лікарську речовину. Такі матеріали включають, але не обмежуються ними, масло какао і поліетиленгліколі.

[00273] Комплекси, які розглядаються в цьому описі, можуть перебувати у формі будь-якої іншої відповідної фармацевтичної композиції (наприклад, спреїв для назального або інгаляційного застосування), відомої в даний час або розробленої в майбутньому.

[00274] Концентрація комплексу поліпептидів в суміші може варіюватися в широких межах (наприклад, від менш ніж приблизно 0,1 мас. %, як правило, 2 мас. % або щонайменше приблизно 2 мас. % до 20-50 мас. % або більше) і зазвичай вибирається головним чином з урахуванням об'єму рідини, в'язкості і факторів, що залежать від суб'єкту, відповідно до, наприклад, конкретного обраного способу введення.

[00275] В цьому документі розглядається застосування технології доставки речовин з уповільненим всмоктуванням компанії Nano Precision Medical (Nano Precision Medical; Емервілл, штат Каліфорнія, США). Ця технологія використовує мембрани на основі нанотрубок з діоксиду титану, що забезпечують швидкості вивільнення нульового порядку для макромолекул, наприклад, білкових та пептидних терапевтичних засобів. Біосумісну мембрану розташовують у невеликому підшкірному імплантаті, що забезпечує довгострокову (наприклад, до одного року) доставку терапевтичних макромолекул з постійною швидкістю. В цей час проходить оцінку технології доставки агоністів GLP-1 для лікування діабету II типу. У певних варіантах реалізації винаходу, комплекс(и), який описано в цьому документі, може являти собою суміш з мембраною. Наприклад, можна просочити мембрану комплексом або оточити мембраною. Мембрана може мати форму диска, трубки або кулі. У певних варіантах реалізації винаходу, трубка може являти собою нанотрубку, або куля може являти собою наносферу.

Шляхи введення

[00276] В цьому описі розглядається введення описаних комплексів та їх композицій будь-яким підходящим способом. Відповідні шляхи введення включають парентеральний (наприклад, внутрішньом'язовий, внутрішньовенний, підшкірний (наприклад, впорскування або використання імплантату), внутрішньочеревний, інтрацистернальний, внутрішньосуглобовий, внутрішньочеревний, внутрішньоцеребральний (інтрапаренхіматозний та інтрацеребровентрикулярний), оральний, назальний, вагінальний, сублінгвальний, внутрішньоочний, ректальний, місцевий (наприклад, трансдермальний), сублінгвальний і інгаляційний.

[00277] Ін'єкції речовин уповільненого всмоктування, які зазвичай вводять підшкірно або внутрішньом'язово, можна також використовувати для вивільнення комплексів, які описано в цьому документі, протягом певного часу. Ін'єкції речовин уповільненого всмоктування, як правило, складені на твердій або масляній основі і в загальному випадку містять щонайменше один з компонентів складу, які викладено у цьому документі. Фахівець в цій галузі техніки повинен бути знайомий з можливими складами і варіантами застосування ін'єкцій речовин уповільненого всмоктування.

[00278] Що стосується антитіл, у типовому варіанті реалізації антитіло або фрагмент антитіла відповідно до цього опису зберігали при концентрації 10 мг/мл у стерильному ізотонічному водному розчині хлориду натрію для ін'єкцій при 4 °C і розводили 100 мл або 200 мл 0,9 % хлориду натрію для ін'єкцій до введення пацієнту. Антитіло вводили шляхом внутрішньовенного вливання протягом 1 години в дозі від 0,2 до 10 мг/кг. В інших варіантах реалізації винаходу, антитіло вводять шляхом внутрішньовенного вливання протягом від 15 хвилин до 2 годин. В інших варіантах реалізації винаходу, процедуру введення здійснюють шляхом підшкірної болусної ін'єкції.

[00279] Цей опис передбачає способи, в яких комплекси по цьому опису вводять суб'єкту щонайменше два рази на день, щонайменше раз на день, принаймні один раз кожні 48 годин, принаймні один раз кожні 72 години, щонайменше раз на тиждень, щонайменше раз у 2 тижні або щонайменше раз на місяць.

Комбінована терапія

[00280] Цей опис передбачає використання комплексу, який наданого в цьому документі, в комбінації з одним або більше з активних терапевтичних агентів або іншими профілактичними або терапевтичними процедурами. При такій комбінованій терапії різні активні агенти часто володіють різними механізмами дії. Така комбінована терапія може бути особливо вигідною за

рахунок зменшення дози одного або більше з агентів, за рахунок чого послаблюються або усуваються небажані ефекти, асоційовані з одним або більше з агентів; крім того, така комбінована терапія може надавати синергетичну терапевтичну або профілактичну дію на основне захворювання, розлад або стан.

5 [00281] Як використовується в цьому документі, термін "комбінація" передбачає включення терапевтичних засобів, які можна вводити окремо, наприклад, в різних складах для роздільного введення (наприклад, вони можуть бути представлені в комплекті) і терапевтичних засобів, які можна вводити разом в одному складі (наприклад, "спільному складі").

10 [00282] У певних варіантах реалізації винаходу, комплекс вводять або застосовують послідовно, наприклад, коли один агент вводять до одного або більше інших агентів. В інших варіантах реалізації винаходу, комплекс вводять одночасно, наприклад, коли два або більше з агентів вводять в один або приблизно один і той же час; вказані два або більше з агентів можуть перебувати у двох або більше окремих складах або бути об'єднані в одному складі (наприклад, спільному складі). Незалежно від послідовного чи одночасного введення двох або 15 більше агентів, вважається, що їх вводять в комбінації для цілей цього опису.

[00283] Комплекси відповідно до цього опису можна застосовувати в комбінації з іншими агентами, корисними для лікування, профілактики, пригнічення або полегшення захворювань, розладів або станів, викладених у цьому документі, включаючи речовини, які зазвичай вводять суб'єктам, які страждають від ожиріння, розладів харчової поведінки, гіперглікемії, 20 гіперінсулінемії, непереносимості глюкози та інших порушень метаболізму глюкози.

[00284] Цей опис передбачає комбіновану терапію з численними агентами (і їх класами), включаючи 1) інсулін, міметики інсуліну та агенти, які тягнуть за собою стимуляцію секреції інсуліну, включаючи сульфонілсечовини (наприклад, хлорпропамід, толазамід, ацетогексамід, толбутамід, глібурид, гліметірид, гліпізид) і меглітиніди (наприклад, репаглінід (ПРАНДИН) і натеглінід (СТАРЛІКС)); 2) наприклад, метформін (ГЛЮКОФАЖ)) і його фармацевтично прийнятні солі, зокрема, гідрохлорид метформіну і його препарати з тривалим вивільненням, такі як Glumetza™, Fortamet™ і GlucophageXR™, та інші агенти, які діють шляхом стимулювання утилізації глюкози, скорочуючи виробництво глюкози в печінці і/або зменшуючи вироблення глюкози в кишечнику; 3) інгібітори альфа-глюкозидази (наприклад, акарбоза, воглібоза і міглітол) і інші агенти, які уповільнюють травлення вуглеводів і, отже, всмоктування з кишечнику і зменшують постпрандіальну гіперглікемію; 4) тіазолідиндіони (наприклад, росіглітазон (АВАНДІЯ), троглітазон (РЕЗУЛІН), піоглітазон (АКТОС), гліпізид, балаглітазон, рівоглітазон, нетоглітазон, AMG 131, MBX2044, мітоглітазон, лобеглітазон, IDR-105, троглітазон, енглітазон, циглітазон, адаглітазон, дарглітазон, які посилюють дію інсуліну (наприклад, шляхом сенсibiliзації інсуліну), включаючи інсулін і міметики інсуліну (наприклад, інсулін деглюдек, інсулін гларгін, інсулін лізпро, інсулін детемир, інсулін глутізин та інгальційні складки кожного), тим самим сприяючи утилізації глюкози в периферичних тканинах; 5) глюкагон-подібні пептиди, включаючи інгібітори DPP-IV (наприклад, алогліптин, омаріліптин, лінагліптин, відагліптин (ГАЛВУС) і сітагліптин (ЯНУВІЯ)) і Глюкагон-подібний пептид-1 (GLP-1) і GLP-1 агоністи і аналози (наприклад, ексенатид (БАСТА і ІТСА 650 (осмотичний насос, який вставляють підшкірно, яка постачає аналог екзенатиду протягом 12-місячного періоду; Intarcia, Бостон, Масачусетс)) і агоністи рецептора GLP-1 (наприклад, дулаглутид, семаглутид, албіглутид, ексенатид, ліраглутид, ліксісенатид, таспоглутид, CJC-1131 і BIM-51077, включаючи їх інтраназальні, трансдермальні і застосовувані раз на тиждень складки); 6) і DPP-IV-стійкі аналози (міметики інкретину), PPAR гама-агоністи, PPAR альфа агоністи, такі як похідні фенофібринової кислоти (наприклад, гемфіброзил, клофібрат, ципрофібрат, фенофібрат, беафібрат), агоністи PPAR подвійної дії (наприклад, ZYN2, ZYN1, GFT505, чиглітазар, мураглітазар, алеглітазар, соделглітазар і наведглітазар), рап-діючі агоністи PPAR, інгібітори PTP1B (наприклад, ISIS-113715 і TTP814), інгібітори SGLT (наприклад, ASP1941, SGLT-3, емплагліфозін, дапагліфозін, канагліфозін, BI-10773, PF-04971729, ремогліфозін, TS-071, тофогліфозін, іпрагліфозін і LX-4211), стимулятори секреції інсуліну, інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (наприклад, алацеприл, беназеприл, каптоприл, церонаприл, цилазаприл, делаприл, еналаприл, еналаприлат, фосіноприл, імідаприл, лізиноприл, мовелтіприл, периндоприл, квінаприл, раміприл, спіраприл, темокаприл або трандолаприл), ангіотензин II антагоністів рецепторів (наприклад, лосартан, тобто КОЗААП□, валсартан, кандесартан, олмесартан, телмесартан і будь-який з цих препаратів, який використовується в комбінації з гідрохлоротіазидом, таким як ГІЗААП□) або інші антигіпертензивні препарати, такі як LCZ 696, агоністи RXR, інгібітори глікоген-синтази кінази-3, імуномодулятори, симпатолітики, бета-адреноблокуючі препарати (наприклад, пропранолол, атенолол, бісопролол, карведилол, 55 метопролол або метопролол тартат), альфа-адреноблокуючі препарати (наприклад, 60

доксазоцин, празоцин або альфа метилдопа) центральні альфа-адренергічні агоністи, периферичні вазодилататори (наприклад, гідралазин); бета-3-агоністи адренергічних рецепторів, інгібітори 11бета-HSD1, інгібітори нейтральної ендопептидази (наприклад, тіорфан і фосфорамідон), антагоністи альдостерону, інгібітори синтази альдостерону, інгібітори реніну (наприклад, похідні сечовини із ди- і три-пептидів (див. патент США № 5116835), амінокислоти і похідні (патенти США № 5095119 і 5104869), амінокислотні ланцюги, зв'язані за допомогою непептидних зв'язків (патент США № 5114937), похідні ди- і три-пептидів (патент США № 5106835), пептидил-аміно-діоли (патенти США № 5063208 і 4845079) і пептидил бета-аміноацил амінодіол карбамати (патент США № 5089471); а також безліч інших пептидних аналогів, як описано в наступних патентах США № 5071837; 5064965; 5063207; 5036054; 5036053; 5034512 і 4894437, і малі молекули інгібіторів реніну (включаючи діол-сульфаніламіди і сульфініли (патент США № 5098924), N-морфоліно похідні (патент США № 5055466), N-гетероциклічні спирти (патент США № 4885292) і піролімідазолони (патент США № 5075451); також, похідні пепстатину (патент США № 4980283) і фтор- і хлор-похідні статон-містять пептидів (патент США № 5066643), еналкретін, RO 42-5892, A 65317, CP 80794, ES 1005, ES 8891, SQ 34017, аліскірен (2(S),4(S),5(S),7(S)-N-(2-карбамоіл-2-метилпропіл)-5-аміно-4-гідрокси-2,7-діізопропіл-8-[4-метокси-3-(3-метоксипропокси)-феніл]-октанамід геміфумарат) SPP600, SPP630 і SPP635), антагоністи рецепторів ендотеліну, інгібітори фосфодіестерази-5 (наприклад, силденафіл, тадалфіл і варденафіл), вазодилататори, блокатори кальцієвих каналів (наприклад, амлодипін, ніфедипін, верапаміл, дилтіазем, галлопаміл, нілудипін, німодипіні, нікардипін), активатори калієвих каналів (наприклад, нікорандил, пінацидил, кромакалім, міноксидил, априлкалім, лопразолам), гіполіпідемічні агенти, наприклад, інгібітори ГМГ-КоА-редуктази, такі як сімвастатин і ловастатин, які продаються як ЗОКОР® і МЕВАКОР® у формі лактон про-ліків, і які функціонують як інгібітори після введення, і їх фармацевтично прийнятні солі дигідрокси відкритого кільця кислотних інгібіторів ГМГ-КоА-редуктази, такі як аторвастатин (зокрема, солі кальцію, реалізовані в ЛІПІТОР®), розувастатин (зокрема, солі кальцію, реалізовані в КРЕСТОР®), правастатин (зокрема, солі натрію, реалізовані в ПРАВАХОЛ®), церивастатин і флувастатин (зокрема, солі натрію, реалізовані в ЛЕСКОЛ®); інгібітор абсорбції холестерину, такий як езетиміб (ЗЕТІА®) і езетиміб у комбінації з будь-якими іншими гіполіпідемічними агентами, такими як інгібітори ГМГ-КоА-редуктази, зазначені вище, і особливо із застосуванням симвастатину (ВІТОРІН®) або аторвастатину кальцію; ЛВЩ-підвищуючі препарати (наприклад, агоністи рецепторів ніацину і ніотинової кислоти, та їх варіанти з розширеним терміном вивільнення або контрольованим вивільненням, і/або з інгібітором ГМГ-КоА редуктази; агоністи рецепторів ніацину, такі як аципімокс і ацифран, а також часткові агоністи рецепторів ніацину; антагоністи рецептору глюкагона (наприклад, МК-3577, МК-0893, LY-2409021 і КТ6-971); агенти, які зв'язують жовчні кислоти (наприклад, коlestилан, коlestимід, колесевалам гідрохлорид, коlestипол, коlestирамін і діалкіламіноалкіл похідні зшитого декстрану), інгібітори ацил-КоА:холестерин ацетилтрансферази (наприклад, авасиміб); агенти, призначені для використання при запальних станах, таких як аспірин, нестероїдні протизапальні препарати або НПЗЗ, глюкокортикоїди і селективні інгібітори циклооксигенази-2 або ЦОГ-2; активатори глюкокінази (GKA) (наприклад, AZD6370); інгібітори 11β-гідроксистероїддегідрогенази 1 типу (наприклад, такі як ті, які описані в патенті США № 6730690 і LY-2523199); інгібітори CETP (наприклад, анацетрапіб, евацетрапіб і торцетрапіб); інгібітори фруктозо-1,6-бісфосфатази (наприклад, такі як ті, що описані в патентах США № 6054587; 6110903; 6284748; 6399782; і 6489476); інгібітори ацетил-КоА карбоксилази-1 або 2 (ACC1 або ACC2); інгібітори PCSK9; часткові агоністи GPR-40; модулятори SCD; інгібітори синтази жирних кислот; амілін і аналоги аміліну (наприклад, прамлінтид); включаючи фармацевтично прийнятні форми солі вищезазначених активних агентів, де це хімічно можливо.

[00285] Крім того, в цьому описі розглядається комбінована терапія з використанням агентів і способів для стимуляції втрати ваги, наприклад, і/або схем фізичного навантаження, які сприяють втраті ваги.

[00286] Комплекси відповідно до цього опису можна використовувати в комбінації з одним або більше з інших агентів будь-яким чином, який відповідає обставинам. В одному варіанті реалізації винаходу, лікування з використанням щонайменше одного активного агента і щонайменше одного комплексу відповідно до цього опису підтримують протягом певного часу. В іншому варіанті реалізації винаходу, лікування з використанням щонайменше одного активного агента знижують або припиняють (наприклад, при стабільному стані суб'єкта), в той час як лікування з використанням комплексу відповідно до цього опису підтримують без зміни схеми прийому. В додатковому варіанті реалізації винаходу, лікування із використанням щонайменше одного активного агента зменшують або припиняють (наприклад, при стабільному

стані суб'єкта), в той час як лікування з використанням комплексу(ів) відповідно до цього опису зменшують (наприклад, знижуючи дозу, частоту прийому або тривалість схеми прийому). В ще одному варіанті реалізації винаходу, лікування з використанням щонайменше одного активного агента зменшують або припиняють (наприклад, при стабільному стані суб'єкта), а лікування з використанням комплексу відповідно до цього опису підсилюють (наприклад, підвищуючи дозу, частоту прийому або тривалість схеми прийому). У ще одному варіанті реалізації винаходу, лікування із використанням щонайменше одного активного агента підтримують, а з використанням комплексу відповідно до цього опису зменшують або припиняють (наприклад, знижуючи дозу, частоту прийому або тривалість схеми прийому). У ще одному варіанті реалізації винаходу, лікування з використанням щонайменше одного активного агента і лікування з використанням комплексу згідно цього винаходу зменшують або припиняють (наприклад, знижуючи дозу, частоту прийому або тривалість схеми прийому).

Дозування

[00287] Комплекси відповідно до цього опису можна вводити суб'єкту в кількості, яка залежить, наприклад, від мети введення (наприклад, бажаного ступеня нормалізації стану); віку, ваги, статі, стану здоров'я та фізичного стану суб'єкта, що підлягає лікуванню; природи поліпептиду, який вводиться, і/або складу; шляху введення; і характеру захворювання, розладу, стану або їх симптомів (наприклад, тяжкості порушення регуляції глюкози/інсуліну і стадії розладу). Схему прийому можна також розробляти з урахуванням наявності, характеру та ступеня небажаних ефектів, пов'язаних з агентом(ами), які вводяться. Ефективні дози та схеми прийому легко визначити, наприклад, на підставі досліджень безпеки і досліджень зі збільшенням дози, досліджень *in vivo* (наприклад, на тваринних моделях) і інших способів, відомих фахівцю в цій галузі техніки.

[00288] У загальному випадку, параметри дозування визначають, що доза в кількісному відношенні повинна бути менше кількості, яка може бути необоротно токсичною для суб'єкта (тобто максимально переносимої дози, МПД) і не менше кількості, необхідної для вимірюваного впливу на суб'єкт. Такі кількості визначаються, наприклад, фармакокінетичними та фармакодинамічними параметрами, пов'язаними з поглинанням, розподілом, метаболізмом і виведенням ("ADME"), з урахуванням шляху введення та інших факторів.

[00289] Ефективна доза (ЕД) є дозою або кількістю препарату, яка дає терапевтичну відповідь або бажаний ефект у деякої частки пацієнтів, що приймають його. "Медіанна ефективна доза" або ЕД₅₀ агенту являє собою дозу або кількість агенту, яка дозволяє отримати терапевтичну відповідь або бажаний ефект у 50 % популяції, якій вводять цей агент. Хоча ЕД₅₀ зазвичай використовують в якості показника обґрунтованої ймовірності ефекту агента, вона не обов'язково являє собою дозу, яку клініцист може вважати доцільною з урахуванням усіх відповідних факторів. Таким чином, у деяких ситуаціях ефективна кількість перевищує розрахункове значення ЕД₅₀, в інших ситуаціях ефективна кількість становить менше розрахункового значення ЕД₅₀, а в інших ситуаціях ефективна кількість аналогічна розрахунковим значенням ЕД₅₀.

[00290] Крім того, ефективна доза комплексу(ів) відповідно до цього опису може являти собою кількість, яка при введенні суб'єкту у вигляді однієї або декількох доз дозволяє отримати бажаний результат у порівнянні зі здоровим суб'єктом. Наприклад, ефективна доза може бути однією з тих, які при введенні суб'єкту з підвищеним рівнем глюкози і/або інсуліну в плазмі дозволяє досягти бажаного зменшення порівняно з рівнем у здорового суб'єкта на щонайменше близько 10 %, щонайменше близько 20 %, щонайменше близько 25 %, щонайменше близько 30 %, щонайменше близько 40 %, щонайменше близько 50 %, щонайменше близько 60 %, щонайменше близько 70 %, щонайменше близько 80 % або більш ніж на 80 %.

[00291] Відповідний рівень дозування зазвичай буде становити від близько 0,001 до 100 мг/кг маси тіла пацієнта на день, які можна вводити у вигляді однієї або декількох доз. У деяких варіантах реалізації винаходу, рівень дозування буде становити від близько 0,01 до близько 25 мг/кг на день, а в інших варіантах реалізації винаходу - від близько 0,05 до близько 10 мг/кг на день. Відповідний рівень дозування може становити від близько 0,01 до 25 мг/кг на день, від близько 0,05 до 10 мг/кг на день, або від близько 0,1 до 5 мг/кг на день. В межах цього діапазону дозування може становити від 0,005 до 0,05, від 0,05 до 0,5 або від 0,5 до 5,0 мг/кг на день.

[00292] Для перорального введення агента композицію можна представити у формі таблеток, капсул і т. п., які містять від 1,0 до 1000 мг активного інгредієнта, зокрема, 1,0, 3,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 50,0, 75,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 400,0, 500,0, 600,0, 750,0, 800,0, 900,0 і 1000,0 міліграм активного інгредієнта. Комплекс(и) можна вводити по схемі, наприклад, від 1 до 4 раз на день, і, часто, один або два рази на день.

[00293] Дозування комплексу(ів) відповідно до цього опису можна повторювати з відповідною частотою, яка може перебувати в межах від одного разу на день до одного разу кожен місяць, в залежності від фармакокінетики комплексу (наприклад, часу напівжиття) та фармакодинамічної відповіді (наприклад, тривалості терапевтичного ефекту комплексу). У деяких варіантах реалізації винаходу, прийом часто повторюють від одного разу на тиждень, одного разу на два тижні, одного разу кожен місяць. В інших варіантах реалізації комплекс вводять приблизно один раз на місяць.

[00294] У деяких варіантах реалізації винаходу доза описаного комплексу міститься в "одиначній лікарській формі". Фраза "одиначна лікарська форма" відноситься до фізично дискретним одиниць, причому кожна одиниця містить задану кількість комплексу за цим описом, або окремо, або в комбінації з одним або більше додатковими агентами, достатніми для отримання бажаного ефекту. Слід брати до уваги, що параметри дозованої лікарської форми залежать від конкретного агента і планованого ефекту.

Набори

[00295] У цьому описі також розглядаються набори, які містять описаний(і) комплекс(и) та їх фармацевтичні композиції. Набори, як правило, представлено у вигляді фізичної структури, в якій розміщені різні компоненти, які описано нижче, яку можна використовувати, наприклад, при практичній реалізації способів, які описано вище (наприклад, введення комплексу суб'єкту, який потребує зменшення маси тіла).

[00296] Набір може містити один або більше з комплексу(ів), який описано в цьому документі (наприклад, у стерильному контейнері), який може бути присутнім у формі фармацевтичної композиції, придатної для введення суб'єкту. Комплекс(и) можуть бути надані у формі, готової до застосування, або у формі, яка вимагає, наприклад, відновлення або розведення перед введенням. Якщо комплекс(и) знаходяться у формі, яка вимагає відновлення користувачем, набір може містити буфери, фармацевтично прийнятні допоміжні речовини і т. п., упаковані з комплексом(ами) або окремо. Якщо розглядається комбінована терапія, набір може містити кілька агентів окремо, або вони вже можуть бути об'єднані в складі набору. Кожен компонент набору можна помістити в окремий контейнер, і всі контейнери можуть перебувати в одній упаковці. Набір відповідно до цього опису може передбачати умови, необхідні для належного підтримання компонентів, розміщених у ньому (наприклад, охолодження або заморожування).

[00297] Набір може містити етикетку або вкладиш в упаковці, яка містять ідентифікаційну інформацію про компоненти, що входять до його складу, а також інструкції щодо їх застосування (наприклад, параметри прийому, клінічну фармакологію активного(их) інгредієнта(ів), в тому числі механізм дії, фармакокінетику та фармакодинаміку, побічні ефекти, протипоказання і т. д.). Етикетки або вкладиші можуть містити інформацію про виробника, наприклад, номери партій і дати закінчення терміну придатності. Етикетку або вкладиш в упаковці можна, наприклад, інтегрувати у фізичну структуру, в якій розміщені компоненти, окремо помістити в зазначену фізичну структуру, або прикріпити до компонента набору (наприклад, ампулі, пробірці або флакону). Типові інструкції включають інструкції щодо зменшення або зниження рівня глюкози в крові, лікування гіперглікемії, лікування цукрового діабету і т. д. із застосуванням описаних модуляторів і фармацевтичних композицій на їх основі.

[00298] Етикетки або вкладиші можуть додатково включати в себе, або бути приєднані до машиночитаного носія, такого як диск (наприклад, жорсткий диск, карта, карта пам'яті), оптичний диск, такий як CD - або DVD-ROM/RAM, DVD, MP3, магнітна стрічка, або електричні носії, такі як RAM і ROM або їх гібриди, такі як магнітні/оптичні носії інформації, флеш-носії або карти пам'яті. У деяких варіантах реалізації винаходу, інструкції фактично відсутні в наборі, проте надані засоби для отримання інструкцій з віддаленого джерела, наприклад, мережі Інтернет.

Експериментальна частина

[00299] Наступні приклади наведено з метою забезпечити фахівців в цій галузі техніки повним описом способів реалізації і застосування цього винаходу, і не призначені для обмеження рамок того, що автори винаходу вважають своїм винаходом; крім того, автори винаходу не мають наміру сказати, що експерименти, які описано нижче, представляють собою всі виконані експерименти або єдині виконані експерименти. Були зроблені зусилля для забезпечення точності використовуваних числових значень (наприклад, кількостей, температури і т. д.), однак слід враховувати можливість деяких експериментальних помилок і відхилень.

[00300] Якщо не вказано інше, частки є масовими долями, молекулярна маса є середньою молекулярною масою, температуру наведено в градусах Цельсія (°C), а тиск дорівнює або близько до атмосферного. Використано стандартні скорочення, в тому числі наступні: п.о. = пар

основ; т.п.о. = тисяч пар основ; пл = піколітр(и); с або сек = секунда(и); хв = хвилина(и); г = година(и); АК = амінокислота(и); т.п.о. = тисяч пар основ; нт = нуклеотид(и); нг = нанограм; мкг = мікрограм; мг = міліграм; г = грам; кг = кілограм; дл = децилітр; мкл = мікролітр; мл = мілілітр; л = літр; мкМ = мікромолярний; мМ = мілімолярний; М = молярний; кДа = кілодальтон; в/м= внутрішньом'язово(ий); в/б= внутрішньочеревно(ий); п/к= підшкірно(ий); 2 р/день= два рази на день; ВЕРХ = високоефективна рідинна хроматографія; МТ = маса тіла; Од = одиниця; нз = не є статистично значущим; РГ = рівень глюкози в плазмі натще; FPI = рівень інсуліну в плазмі натще; ІТТ = тест сприйнятливості інсуліну; РТТ = тест сприйнятливості пірувату; оGTT = пероральний тест сприйнятливості глюкози; GSIS = секреція інсуліну під дією глюкози; PBS = фізіологічний розчин з фосфатним буфером; ПЛР = полімеразна ланцюгова реакція; NHS=N-гідроксисукцинімід; DMEM = середовище Ігла, модифіковане по Дульбекко; GC = копія геному; ЕДТА = етилендіамінтетраоцтова кислота.

Матеріали і способи

[00301] Наступні способи і матеріали були використані у прикладах, наведених нижче.

[00302] Тварини. Самців мишей C57BL/6J з аліментарним ожирінням (The Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) утримували на кормі з високим вмістом жирів (D12492, Research Diets, Inc., Нью-Брансуик, штат Нью-Джерсі, США), який містить 60 ккал% жиру, 20 ккал% білка і 20 ккал% вуглеводів протягом 12-20 тижнів. Всі дослідження на тваринах були схвалені комітетом з догляду за тваринами та їх використанням NGM. Миші DIO C57BL/6J являють собою модель ожиріння, подібну до ожиріння у людини, де ожиріння ґрунтується на надмірному споживанні калорій. Миші C57BL/6J схильні до ожиріння, при якому спостерігається виражене збільшення маси тіла, а також гіперінсулінемія і іноді гіперглікемія. Лінія являє собою найбільш часто використовувану лінію мишей для моделювання аліментарного ожиріння. (Nilsson C. et al., Acta Pharmacologica Sinica (2012) 33:173-181).

[00303] Послідовності нуклеїнової кислоти і амінокислоти. Згадувана кДНК ОРС з номером доступу GenBankBC000529.2, яка кодує варіанти GDF15 людини, і згадувана амінокислотна послідовність з номером доступу GenBankNP_004855.2, яка кодується за допомогою кДНК. кДНК для партнера Fc-злиття було придбано в InvivoGen (pFUSE-CHlg-hG1, GenBank:AY623427.1, білок ID=AAT49050) і модифіковано як зазначено. Амінокислотна послідовність партнеру Fc-злиття, яка кодується за допомогою вектору pFUSE-CHlg-hG1, являє собою:

[00304]

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:55)

[00305] Конструювання експресійних конструктів. Експресійний вектор рТТ5 ссавців (National Research Council Canada) було модифіковано шляхом вставки елемента Козак і послідовності IgK-сигнального пептиду людини: (CACCATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTACTCTGGCTCCGAGGTGC CAGATGT) (SEQ ID NO:56) між сайтами PmeI і EcoRI. У той час як обидва зазначених сайти рестрикції були видалені, для подальшого клонування в рамці зчитування створили сайт AgeI. Для одиночної вставки фрагменту (наприклад, Fc-частини IgG1 людини) було використано технологію In-Fusion (Clontech). Для вставки двох і більше ПЛР-фрагментів, які генеруються (тобто hlgG1-Fc+GDF15), ми використовували Gibson Assembly Master Mix (NEB) згідно з протоколами виробника. Всі ПЛР фрагменти було ампліфіковано за допомогою ПЛР суміші Sapphire і очищено на гелі з використанням набору Qiagen Gel Extraction. Електро-компетентні клітини TOP10 (Life Technologies), трансформовані в реакціях клонування, висівали на чашки з LB-агаром, який містить карбеніцилін, і інкубували протягом ночі при 37 °С. Окремі колонії були зібрані та проаналізовані за допомогою секвенування. ДНК позитивних колоній ампліфікували (ДНК-Maxi-prep, Qiagen), підтверджували за допомогою повного секвенування і використовували для трансфекції клітин ссавців для експресії рекомбінантного білка.

[00306] Для створення специфічних мутантів виконували сайт-специфічний мутагенез з використанням або набору QuikChange Lightning або з набором QuikChange Lightning Multi Site-Directed Mutagenesis (Agilent) і відповідних праймерів, слідуючи протоколами виробника.

[00307] (Fc/Fc)-GDF15 злиті молекули, GDF15 дикого типу та експресія GDF15-глікомутеїну. Всі молекули були добуті з трансфектованих в клітинах Expi 293F (Invitrogen Corporation, Карлсбад, Каліфорнія). Клітини в робочому порядку пересівали на середовище для експресії Expi (Invitrogen) та підтримували у вигляді суспензійних культур в колбах різного розміру. Як правило, клітини пересівали при щільності клітин 5e5 життєздатних клітин/мл і вирощували

протягом 3-х днів до пересіву. Колби тримали в CO₂ інкубаторі зі зволоженням (37 °C і 5 % CO₂) на шейкерних платформах New Brunswick (New Brunswick Scientific Company, Едісон, Нью-Джерсі) при швидкості перемішування 110 об/хв.

[00308] Трансфекцію виконували при досягненні щільності клітин у культурі, яка дорівнює 2,5e6 життєздатних клітин/мл при більш ніж 95 % життєздатності. Як правило, для 50 мл трансфекції інокулювали 2,5e6 клітин/мл X 50 мл у 250 мл колбу, яку струшують, в об'ємі культури 42,5 мл. П'ятдесят мікрограм (50 мкг) плазмідної ДНК, яка складається з експресуючого вектору, який містить досліджуваний ген, спочатку розводили 2,5 мл відновленого сироваткового середовища OPTI-MEM (Invitrogen). Одночасно, реагент для трансфекції експіфектамін (Invitrogen) у 2,67-кратному об'ємі (кількості плазмідної ДНК) також розводили у 2,5 мл відновленого сироваткового середовища OPTI-MEM. Після 5 хв інкубування при кімнатній температурі розбавлений реагент для трансфекції повільно додавали до розведеної плазмідної ДНК для утворення трансфекційних компетентних комплексів. Ще через 20 хв інкубаційного періоду при кімнатній температурі, 5 мл трансфекційних комплексів додавали до 42,5 мл клітинної культури. Потім трансфектовані клітини поміщали в CO₂ інкубатор зі зволоженням на орбітальний шейкер зі швидкістю перемішування 110 об/хв. Через двадцять чотири години після трансфекції в трансфектовану культуру вносили 250 мкл енхансерного розчину 1 (Invitrogen) і 2,5 мл енхансерного розчину 2 (Invitrogen). Потім культуру знову поміщають у CO₂ інкубатор зі зволоженням на орбітальний шейкер. Через шість-сім днів після трансфекції культури збирали центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 30 хв, а потім фільтрували через 0,2 мкм фільтр (Nalgene). Потім зразки аналізували на предмет експресії в гелі з фарбуванням кумасі.

[00309] Очищення рекомбінантного білка. (Fc/Fc)-GDF15 молекули, які були експресовані в кондиційованих середовищах (CM), оцінювалися для відновлення і активності після очищення. CM пропускали через мАт SelectSuRe колонку (GE) при навантажувальній здатності не більше ніж 20 мг/мл смоли. Об'єми CM коливалися від 50 мл-1000 мл для оцінки відновлення. Після завантаження мАт SelectSuRe CM, колонку промивали 5-10 об'ємами колонки 1XPBS (Corning Cellgro) з наступною стадією елюювання буфером гліцину з низьким рН (Polysciences Inc). Після елюювання, нейтралізували рН пулу (Fc/Fc)-GDF15 з 1М Трис рН 8,0 (Teknova), а потім вводили в колонку Superdex200 (GE) попередньо врівноважену в 1XPBS (Corning Cellgro). Фракції інтактних (Fc/Fc)-GDF15, повністю зібраних молекул були об'єднані та проаналізовані на чистоту і кількісно оцінені за допомогою A280 способів з використанням відповідного коефіцієнта ослаблення і молекулярної ваги для визначення відновлення в залежності від початкових об'ємів CM. Повністю зібрані молекули були димер-димерним комплексом з двох гетеродимерів. Кожен гетеродимер, який має Fc, зв'язаний з Fc-GDF15 глікомутеїном за допомогою взаємодії виступу і западини, і двох гетеродимерів, які зв'язано через GDF15 – GDF15 взаємодію.

[00310] Очищення GDF15 ДТ і GDF15 глікомутеїнів. GDF15 дикого типу і GDF15 глікомутеїни, які не кон'юговано з Fc, було очищено від культурального середовища з використанням іонообмінного захоплення. GDF15 ДТ і GDF15 глікомутеїни елюювали з використанням градієнту відповідної солі/рН, який підходить для оптимального елюювання і відокремлення від домішок білка клітини-хазяїна. Всі молекули GDF15 додатково очищували за допомогою GE HiTrap Phenyl HP при рН 8,0 з використанням лінійного градієнта сульфату амонію, який знижувався. Фракції оцінювали і об'єднували на підставі чистоти і параметрів глікозилування за допомогою зсуву гелю при електрофорезі в ДСН-ПААГ у невідновлюючих умовах. Аналогічно (Fc/Fc)-GDF15 молекулам, GDF15 дикого типу і GDF15 глікомутеїни були експресовані за допомогою сигнального пептиду IgK.

Приклад 1: Конструкція гетеродимерних виступ-в-западину (Fc/Fc)-GDF15 злитих молекул

[00311] Конструкції Fc-GDF15, які представлено на Фіг. 1 і первинні послідовності зображені нижче (конструкти B1a/b-B19a/b). Для досягнення продуктивного складання молекул Fc-GDF15, було розроблено ефективну систему для забезпечення димерізації Fc/Fc, допускаючи при цьому димерізацію GDF15/GDF15. Для того, щоб уникнути неправильного згортання і агрегації потенційного одноланцюгового Fc-GDF15, було сконструйовано гетеродимерний партнер злиття для Fc/Fc взаємодії для забезпечення високої точності GDF15/GDF15 гомодимерізації. Fc/Fc гетеродимери виступ-в-западину було сконструйовано для адресного GDF15 складання і секреції із Expi 293F транзійтних систем. Fc/Fc гетеродимерні виступ-в-западину системи оцінювалися за допомогою [T366Y (виступ) // Y407T (западина)] або [T366W (виступ) // T366S-L368A-Y407V (западина)] системи, у поєднанні з (G4S)_n лінкером (n=2, 3, 4 або 5) і GDF15. Слід зазначити, що нумерація положень в амінокислоті в CH3 домені Fc основана на системі нумерації EC (Edelman, G.M. et al., Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969)). У всіх випадках,

партнер Fc-злиття (виступ/западина) було приєднано до N-кінця зрілого GDF15, що містить амінокислотні залишки A1-I112, R2-I112, N3-I112, G4-I112, D5-I112, H6-I112 або C7-I112. Усікання на N-кінці GDF15 ($\Delta 1=R2-I112$, $\Delta 2=N3-I112$, $\Delta 3=G4-I112$, $\Delta 4=D5-I112$, $\Delta 5=H6-I112$ або $\Delta 6=C7-I112$), які були включені для підвищення стійкості як послідовність на N-кінці (ARNGDH, SEQ ID NO:95), раніше були продемонстровані, як сайт протеолітичної сприйнятливості, і N-кінцеві усікання забезпечують чудову стабільність у порівнянні з GDF15, який не містить ці N-кінцеві усікання.

[00312] На Фіг.1A-1D продемонстровано розташування виступу по відношенню до западини у Fc-GDF15 (ланцюг A), у поєднанні з відповідною западиною по відношенню до виступу у гетеродимерному Fc-партнері (ланцюг B), у поєднанні або з шарніром IgG дикого типу, який містить два міжмолекулярні дисульфідні зв'язки, або доменом без шарніра (Дшарнір). Для Fc-гетеродимерних виступу або западини A/B ланцюгів мутацію AA (APELLGGP (SEQ ID NO:96)→APALAGGP (SEQ ID NO:97)) було внесено для видалення функціональності ефектора IgG1. Гетеродимерні виступ-в-западину (Fc/Fc)-GDF15 конструкції були експресійно профільовані для складання і представлено на Фіг. 2A. У всіх випадках, транзйентна експресія виступ-в-западину (Fc/Fc)-GDF15 призводить до відновлення після очищення між 0 мг/л та 74,9 мг/л правильно зібраного продукту (0 = агрегати/без експресії, < 25 мг/л, 25 мг/л - 49,9 мг/л, 50 мг/л - 74,9 мг/л, 75 мг/л - 99,0 мг/л, > 100 мг/л). У всіх випадках, складання та секреція виступ-в-западину гетеродимерних Fc/Fc-GDF15 молекул супроводжувалися різними забруднюючими рівнями неправильно згорнутих гетеродимерних видів таких як Fc(западина):Fc(западина), Fc(виступ):Fc(виступ), Fc(виступ)-GDF15:Fc(виступ)-GDF15 і Fc(западина)-GDF15:Fc(западина)-GDF15. Ґрунтуючись на визначенні профілю експресії, T366W (виступ) розташовано на Fc-GDF15 ланцюзі, в поєднанні з T366S-L368A-Y407V (западина) на ланцюзі гетеродимерного Fc партнера (Фіг. 1D), було знайдено для виробництва продукту з максимальною стабільністю і мінімізованим неправильним спарюванням Fc/Fc-гомодимерних продуктів (Фіг. 2A – варіант B5a/B5b). Ця конструкція була в центрі подальшого конструювання експресії і оптимізації.

[00313] Варіант B5a/B5b, який було відновлено з трансфектованих джерел Expi 293F, представляв відновлення в діапазоні від 0,0 мг/л до 24,9 мг/л. Щоб посилити експресію, збирання і відновлення, сайти N-глікозилювання були введені в зрілу послідовність GDF15 (Фіг. 1F). В сконструйованих конструктах, наявність одного консенсусного сайту N-зв'язаного глікану на GDF15 значно покращувало експресію, збирання і відновлення повністю зрілих (Fc/Fc)-GDF15 виступ-в-западину гетеродимерів B5a/B5b (Фіг. 2A – варіанти B9a/B9b до B19a/B19b). Було встановлено за допомогою in vitro аналізу, що довжина лінкера оптимальна, коли n=5 для (G4S)_n для зв'язування та активності рецептору. Наявність глікану в положенні D5T повністю видаляє первинний сайт дезамідування в положенні N3 зрілого GDF15 і з'являється для подальшого підвищення стабільності молекули як було продемонстровано в Прикладі 2.

[00314] Передбачається, що наявність N-зв'язаних гліканів в послідовності GDF15 допомагає експресії і мінімізує неправильне згортання продуктів накопичення за рахунок збільшення часу перебування в ендоплазматичному ретикулумі та апараті Гольджі в ході секреторного процесу. Передбачається, що цей додатковий час перебування має позитивний ефект на кінетику згортання і дозволяє значно поліпшити гетеро-димерне (Fc/Fc) виступ-в-западину сполучення та вилучення з культури тканин ссавців.

[00315] Послідовності варіантів (B1a/b-B19a/b) представлено нижче. В послідовностях, які зображено нижче, сигнальний пептид IgK людини знаходиться в нижньому регістрі, який слідує за Fc-послідовністю. У послідовностях, які також містять лінкер і GDF15 послідовність, Fc-послідовність слідує за послідовністю лінкера (підкреслено), яка слідує за GDF15 послідовністю (жирний шрифт). Нумерація положень амінокислотних замін в Fc- послідовності заснована на нумерації ЄС, заміни з посиланням на амінокислоту представлено у відповідному положенні IgG1Fc людини (SEQ ID NO:2). Нумерація N-кінцевої делеції в послідовності GDF15 і амінокислотних замін(и) з посиланням на зрілий GDF15 дикого типу людини (SEQ ID NO:1).

B1a:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366Y)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)

[00316]

mdmrpvaqlglillwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLYCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGDHCPGPRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:57)

B1b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(Y407T)

[00317]

mdmrpvaqlgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
5 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLT
SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:58)

B2a:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(Y407T)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)

[00318]

mdmrpvaqlgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
10 KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLT
SKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGG
GSGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSL
HRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:59)

B2b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366Y)

[00319]

mdmrpvaqlgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLYCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFL
20 YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:60)

B3a:hlqK-hlgG1-Fc(Δшарһip, AA)(T366Y)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)

[00320]

mdmrpvaqlgllllwlgarcAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
25 TLPPSREEMTKNQVSLYCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGDHCPL
GPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV
APCCVPASYNPMVLIQKTDGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:61)

B3b:hlqK-hlgG1-Fc(Δшарһip, AA)(Y407T)

[00321]

mdmrpvaqlgllllwlgarcAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLTSKLTVDKSR
30 WQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:62)

B4a:hlqK-hlgG1-Fc(Δшарһip, AA)(Y407T)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)

[00322]

mdmrpvaqlgllllwlgarcAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
40 TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLTSKLTVDKSR
WQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGDHCPL
GPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPV
APCCVPASYNPMVLIQKTDGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:63)

B4b:hlqK-hlgG1-Fc(Δшарһip, AA)(T366Y)

[00323]

mdmrpvaqlgllllwlgarcAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
45 TLPPSREEMTKNQVSLYCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:64)

B5a:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)

[00324]

mdmrpvaqlgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFL
50 YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGGGSGGGG
GSGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTS
LHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:65)

B5b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00325]

mdmrpvaqlgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
60 KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**SCA**VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:66)

B6a:hlgK- hlgG1-Fc(AA) (T366S)(L368A)(Y407V)-(G₄S)₅-ΔN6-GDF15 (C7-I112)

[00326]

5 mdrmvpaqlglillwlr garcDKTHTCPPCPAP**ALAGG**PSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**SCAV**KGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV L DSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GG**SCPLGPRCCRLH**TVRAS**LEDL**GWADWVLS**PREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRL**
10 **KPDTVPAPCCVPASYNPMVL**IQKTD**TGVS**LQTYDDLLAKD**CHCI** (SEQ ID NO:67)

B6b:hlgK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)

[00327]

mdmrvpaqlgllllwlgargcDKTHTCPPCPAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKD¹LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
15 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**W**CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:68)

B7a:hlgK-hlgG1-Fc(Δ шарпир, AA)(T366W)-(G₄S)₅- Δ N3-GDF15 (G4-I112)

[00328]

20 mdmrvpaqlglillwlgarcAP**ALAGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG**
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSL**W**CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK**GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGDHCPL**
GPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTP
APCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:69)

B7b:hlgK-hlgG1-Fc(Δ шарнір AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00329]

mdmrpvaqlglIIllwlgarcAP**ALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG**
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSL**SCAV**KGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR
30 WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:70)

B8a:hlGK-hlgG1-Fc(Δ h, AA) (T366S)(L368A)(Y407V)-(G₄S)₅- Δ N6-GDF15 (C7-I112)

[00330]

mdmrvpaqligllllwlgarcAP**ALAGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV**
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
35 TLPPSREEMTKNQVSL**SCAV**KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG**SCPLGPG**
RCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPC
CVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:71)

B8b:hlgK-hlgG1-Fc(Δ h, AA)(T366W)

[00331]

mdmrvpaqlglIIllwlgarcAP**AL**AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**W**CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:72)

B9a:hlgK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₃-GDF15 (A1-I112) (D5T)

[00332]

mdmrvpaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAP**ALAGG**PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**WCLVK**GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFL
50 YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGS**ARNGTHCP**
LGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDVT
PAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:73)

B9b:hlgK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00333]

55 mdmrvpaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAP**ALAGG**PSVFLFPPKPKDTMLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL**SCA**VKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:74)

B10a:hlqK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₄-GDF15 (A1-I112) (D5T)

[00334]

mdmrpvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
5 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
NGTHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHR
LKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:75)

B10b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00335]

mdmrpvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
10 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:76)

B11a:hlqK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-GDF15 (A1-I112) (D5T)

[00336]

mdmrpvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
20 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGARNGTHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQI
KTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:77)

B11b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00337]

mdmrpvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
25 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:76)

B12a:hlqK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₂-ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)

[00338]

mdmrpvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
30 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
RLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVP
ASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:78)

B12b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00339]

mdmrpvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
40 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:79)

B13a:hlqK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)

[00340]

mdmrpvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
45 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGNGTHCPLGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKT
50 **SLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTYYDDLLAKDCHCI** (SEQ ID NO:80)

B13b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00341]

mdmrpvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
55 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:81)

B14a:hlqK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R21N)

[00342]

mdmrpvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
60 KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGDHCPGPGRCRLHTVNASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTS
LHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:82)

5 **B14b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)**

[00343]

mdmrvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:83)

B15a:hlqK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(S23N/E25T)

[00344]

mdmrvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGDHCPGPGRCRLHTVRANLTDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTS
LHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:84)

B15b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00345]

mdmrvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:85)

B16a:hlqK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(F52N/A54T)

[00346]

mdmrvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGDHCPGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQNRTANMHAQIKTS
LHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:86)

B16b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00347]

mdmrvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:87)

B17a:hlqK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R53N/A55T)

[00348]

mdmrvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGDHCPGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFNATNMHAQIKTS
LHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:88)

B17b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00349]

mdmrvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:89)

B18a:hlqK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112) (K91N/D93T)

[00350]

mdmrvaqlglglllwlrgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSGDHCPGPGRCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTCIGACPSQFRAANMHAQIKTS
LHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQNTTGTGVSQTQYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:90)

B18b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00351]

mdmrpvaqlgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
5 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:91)

B19a:hlqK- hlgG1-Fc(AA)(T366W)- (G₄S)₅-ΔN3-GDF15 (G4-I112)(D93N/G95T)

[00352]

mdmrpvaqlgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
10 KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSGGGSGGGSGG
GGSDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQFRAANMHAQIKTS
LHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTNTTVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:92)

B19b:hlqK-hlgG1-Fc(AA)(T366S)(L368A)(Y407V)

[00353]

mdmrpvaqlgllllwlgarcDKTHTCPPCPAPALAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
20 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:93)

[00354] Послідовності зрілого GDF15 дикого типу людини (SEQ ID NO:1) і глікомутеїни GDF15, перераховані на Фіг. 2B, які представлено наступним чином:

IgK-дикого типу зрілого GDF15 людини

[00355]

mdmrpvaqlgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
25 FRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:108)

IgK-GDF15-глікомутеїн R21N

[00357]

mdmrpvaqlgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVNASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
30 FRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:109)

IgK-GDF15-глікомутеїн R53N/A55T

[00359]

mdmrpvaqlgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
35 FNATNMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:110)

IgK-GDF15-глікомутеїн S64N/H66T

[00361]

mdmrpvaqlgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
40 FRAANMHAQIKTNLTRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:111)

IgK-GDF15-глікомутеїн P70N

[00363]

mdmrpvaqlgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
45 FRAANMHAQIKTSLHRLKNDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:112)

IgK-GDF15-глікомутеїн Q90N

[00365]

mdmrpvaqlgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
50 FRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDGTGVSQTQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:113)

IgK-GDF15-глікомутеїн K91N/D93T

[00367]

mdmrpvaqlgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
55 FRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQNTTGTGVSQTQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:114)

IgK-GDF15-глікомутеїн D93N/G95T

[00369]

mdmrpvaqlgllllwlgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
60

FRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTNTTVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:115)

[00371] **IgK-GDF15-глікомутеїн G95N**

[00372]

5 mdmrvpaqlglglllwlrgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
FRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTNVSLQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:116)

[00373] **IgK-GDF15-глікомутеїн S97N/Q99T**

[00374]

10 mdmrvpaqlglglllwlrgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
FRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVNLTYYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:117)

[00375] **IgK-GDF15-глікомутеїн L98N**

[00376]

15 mdmrvpaqlglglllwlrgarcARNGDHCPLGPGRCCRLHTVRASLEDLGWADWVLSPREVQVTMCIGACPSQ
FRAANMHAQIKTSLHRLKPDTPAPCCVPASYNPMVLIQKTDTGVSNQTYDDLLAKDCHCI (SEQ ID NO:118)

[00377] Молекули GDF15 були експресовані з використанням сигнального пептиду IgK, який відплювався від секретованого поліпептиду сигнальною пептидазою, яка експресується 293 клітинами. Відновлення зрілого GDF15 дикого типу людини (SEQ ID NO:1) і глікомутеїни GDF15 перераховані на Фіг. 2B.

[00378] Ілюстративні глікомутеїни GDF15, які можуть бути експресовані як Fc-Fc(виступ/западина)GDF15 глікомутеїни, описані в USSN14/811578, яку подано 28 липня 2015 року.

25 Приклад 2: Вплив (Fc/Fc)-GDF15 злитих молекул на масу тіла і прийом їжі у мишачої DIO моделі

[00379] Вплив підшкірного введення гібридної молекули, яка містить рекомбінантний Fc-гетеродимер, злитий з рекомбінантом GDF15 людини (тобто, комплекс з двох гетеродимерів, кожен гетеродимер, який має Fc-поліпептид, який димерізовано з поліпептидом Fc-GDF15 глікомутеїну), на масу тіла було оцінено протягом 35-денного періоду. Коротко, злиті молекули B9a/B9b, B11a/B11b і B13a/B13b вводили щотижня протягом 21 доби в дозах від 0,4 нмоль/кг і 4 нмоль/кг у вигляді одноразової підшкірної болюсної ін'єкції (10 мл/кг) DIO мишам масою приблизно 35-40 г. Після введення контрольного наповнювача або злитих молекул, зменшення маси тіла спостерігалось в різних часових точках протягом 35-денного періоду, який містив 21-денну схему прийому білка з наступною 14-денним промиванням (після введення дози) для моніторингу ефективності.

[00380] Як показано на Фіг. 3-6, введення Fc-злитих молекул (гетеродимер-гетеродимерний комплекс) у дозі від 0,4 нмоль/кг і 4 нмоль/кг призвело до значного зменшення маси тіла. У кожній групі мишей, $n = 6$ і p -значення (*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$, нз = не значимо) визначали за допомогою непараметричного Т-критерію Ст'юдента при порівнянні контрольної групи, яка одержувала носій, у кожний зазначений момент часу. Як зображено на Фіг. 7, загальну вагу тіла з аналізом SEM показано в кожен момент часу взяття проб для всіх груп. Як зображено на Фіг. 8, зміни в масі тіла (г) з аналізом SEM і p -значеннями показані в кожен момент часу взяття проб для всіх груп. Як зображено на Фіг. 9, відсоток зміни маси тіла (%) з аналізом SEM і p -значеннями показано в кожен момент часу взяття проб для всіх груп.

[00381] Як зображено на Фіг. 3 і 5, спостерігається збільшення ефективності зменшення ваги тіла для B13a/B13b у порівнянні з B9a/B9b і B11a/B11b в 0,4 нмоль/кг досліджуваної дози. Підвищена ефективність *in vivo* для B13a/B13b пояснюється підвищеною стабільністю за рахунок скорочення 2 N-кінцевих залишків GDF15 (ΔAR).

50 [00382] У цьому документі описано конкретні варіанти реалізації цього винаходу, включаючи найкращі способи його здійснення, відомі авторам. При читанні вищеведеного опису для осіб, які працюють в цій галузі техніки, можуть стати очевидні зміни описаних варіантів реалізації, і очікується, що досвідчені фахівці можуть при необхідності використовувати такі зміни. Відповідно, передбачається, що на практиці винахід буде використано інакше, ніж це описано в
55 цьому документі, і що даний винахід включає всі модифікації та еквіваленти предмета винаходу, які викладено у формулі винаходу, яка додається до цього документу у відповідності з діючим законодавством. Крім того, будь-яка комбінація вищеописаних елементів у всіх можливих варіантах охоплюється винаходом, якщо інше не зазначено в цьому документі, або іншим чином явно не суперечить контексту.

[00383] Всі публікації, патентні заявки, облікові номери та інші джерела, згадані в цьому описі, включено в цей документ шляхом посилань для всіх цілей, як якщо б кожна окрема публікація, патент або патентна заявка були спеціально та окремо включені шляхом посилання.

5 ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> NGM BIOPHARMACEUTICALS, Inc.
Shen, Wenyan
Lindhout, Darrin A.
10 Haldankar, Raj
Matern, Hugo

<120> КОМПОЗИЦІЇ І СПОСОБИ ЛІКУВАННЯ МЕТАБОЛІЧНИХ РОЗЛАДІВ

15 <130> NGMB-142WO

<150> US 62/073737
<151> 2014-10-31

20 <150> US 62/244604
<151> 2015-10-21

<160> 136

25 <170> PatentIn версії 3.5

<210> 1
<211> 112
<212> ПРТ

30 <213> Homo sapiens

<400> 1

35 Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
1 5 10 15

Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
20 25 30

40

Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
35 40 45

45

Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
50 55 60

50 Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
65 70 75 80

Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
55 85 90 95

Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

```

<210> 2
<211> 232
5 <212> IPT
  <213> Homo sapiens

<400> 2

10 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
15                    20                    25                    30

   Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20                    35                    40                    45

   Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
   50                    55                    60

25

   Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
   65                    70                    75                    80

30 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
35                    100                    105                    110

   Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
   115                    120                    125

40

   Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
   130                    135                    140

45

   Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
   145                    150                    155                    160

50 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
55                    180                    185                    190

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

```

UA 121973 C2

195

200

205

5 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

10 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 3
<211> 347
<212> ПРТ
15 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

20 <400> 3

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

25 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

30 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

35 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

40 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

45 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

50 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

55 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

UA 121973 C2

	145				150					155					160	
5	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
					165					170					175	
10	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
				180					185					190		
15	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
			195					200					205			
20	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
		210					215					220				
25	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asn	Gly	Thr
	225					230					235					240
30	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg
					245					250					255	
35	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg
				260					265					270		
40	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg
			275					280					285			
45	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys
		290					295					300				
50	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro
	305					310					315					320
55	Met	Val	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr
					325					330					335	
	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile					
				340					345							
	<210>	4														
	<211>	227														
	<212>	ПРТ														
	<213>	Штучна послідовність														
	<220>															
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду														

UA 121973 C2

<400> 4

5	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	1	5	10	15
10	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	20	25	30	
15	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	35	40	45	
20	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	50	55	60	
25	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	65	70	75	80
30	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	85	90	95	
35	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	100	105	110	
40	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	115	120	125	
45	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	130	135	140	
50	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	145	150	155	160
55	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	165	170	175	
	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	180	185	190	
	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	195	200	205	
	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	210	215	220	

Pro Gly Lys
225

5

<210> 5
<211> 362
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

10

<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 5

15

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

20

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

25

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

30

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

35

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

40

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

45

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

50

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

55

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

UA 121973 C2

	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
				180					185					190		
5	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
			195					200					205			
10	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
		210					215					220				
15	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
	225					230					235					240
20	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asn	Gly	Thr	His
					245					250					255	
25	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala
				260					265					270		
30	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu
			275					280					285			
35	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala
		290					295					300				
40	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro
	305					310					315					320
45	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met
					325					330					335	
50	Val	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp
				340					345					350		
55	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile						
			355					360								
	<210>	6														
	<211>	227														
	<212>	ПРТ														
	<213>	Штучна послідовність														
	<220>															
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду														
	<400>	6														

UA 121973 C2

	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	
	1				5					10					15		
5	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
				20					25					30			
10	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
			35					40					45				
15	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
		50					55					60					
20	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
	65					70					75					80	
	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
					85					90					95		
25	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	
				100					105					110			
30	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
			115					120					125				
35	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
		130					135					140					
40	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
	145					150					155					160	
	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
					165					170					175		
45	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
				180					185					190			
50	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
			195					200					205				
55	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
		210					215					220					
	Pro	Gly	Lys														

225

5 <210> 7
 <211> 361
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 10 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 <400> 7

 15 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
 1 5 10 15

 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 20 25 30

 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 25 35 40 45

 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 30 50 55 60

 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 35 65 70 75 80

 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 40 85 90 95

 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 45 100 105 110

 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 50 115 120 125

 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 55 130 135 140

 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 60 145 150 155 160

 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 65 165 170 175

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

UA 121973 C2

	180	185	190
5	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met 195 200 205		
10	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser 210 215 220		
15	Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly 225 230 235 240		
20	Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys 245 250 255		
25	Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Asn Ala Ser 260 265 270		
30	Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val 275 280 285		
35	Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala 290 295 300		
40	Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp 305 310 315 320		
45	Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val 325 330 335		
50	Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp 340 345 350		
55	Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile 355 360		
	<210> 8		
	<211> 227		
	<212> ПРТ		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> синтетична послідовність поліпептиду		
	<400> 8		
	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly		

UA 121973 C2

[illegible]

<210> 9
 <211> 361
 <212> ПРТ
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 10 <400> 9

 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
 1 5 10 15

 15 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30

 20 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45

 25 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60

 30 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80

 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95

 35 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110

 40 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125

 45 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140

 50 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160

 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175

 55 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190

UA 121973 C2

	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
			195					200					205				
5	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
		210					215					220					
10	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	
	225					230					235					240	
	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	
15					245					250					255		
	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Asn	
20				260					265					270			
	Leu	Thr	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	
			275					280					285				
25	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	
		290					295					300					
30	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	
	305					310					315					320	
	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	
35					325					330					335		
	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	
40				340					345					350			
	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile								
			355					360									
45	<210>	10															
	<211>	227															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
50	<220>																
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
	<400>	10															
55	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	
	1				5					10					15		

UA 121973 C2

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

<210> 11

<211> 361
 <212> PPT
 <213> Штучна послідовність

5 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 11

10 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
 1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 15 20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 20 35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60

25 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80

30 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 35 100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 40 115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140

45 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160

50 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175

55 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190

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

UA 121973 C2

195

200

205

5 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

10 Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys
245 250 255

15 Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser
260 265 270

20 Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
275 280 285

25 Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Asn Arg Thr Ala
290 295 300

30 Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
305 310 315 320

Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
325 330 335

35 Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
340 345 350

40 Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
355 360

45 <210> 12
<211> 227
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

50 <220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 12

55 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

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

UA 121973 C2

	20	25	30
5	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His 35	40	45
10	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val 50	55	60
15	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr 65	70	75
20	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly 85	90	95
25	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile 100	105	110
30	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val 115	120	125
35	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser 130	135	140
40	Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu 145	150	155
45	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro 165	170	175
50	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val 180	185	190
55	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met 195	200	205
	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser 210	215	220
	Pro Gly Lys 225		
	<210> 13 <211> 361 <212> ПРТ		

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> синтетична послідовність поліпептиду

5

<400> 13

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

10

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

15

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

20

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

25

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

30

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

35

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

40

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

45

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

50

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

55

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

UA 121973 C2

	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
	210						215					220					
5	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	
	225					230					235					240	
10	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	
					245					250					255		
15	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	
				260					265					270			
20	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	
			275					280					285				
	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Asn	Ala	Thr	
	290						295					300					
25	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	
	305					310					315					320	
30	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	
					325					330					335		
35	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	
				340					345					350			
40	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile								
			355					360									
	<210>	14															
	<211>	227															
	<212>	ПРТ															
45	<213>	Штучна послідовність															
	<220>																
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
50	<400>	14															
	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	
	1				5					10					15		
55	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
				20					25					30			

UA 121973 C2

	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
			35					40					45				
5	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
		50					55					60					
10	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
	65					70					75					80	
15	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
					85					90					95		
20	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	
				100					105					110			
25	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
			115					120					125				
30	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
	130						135					140					
35	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
	145					150					155					160	
40	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
					165					170					175		
45	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
				180					185					190			
50	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
			195					200					205				
55	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
	210					215						220					
60	Pro	Gly	Lys														
	225																
65	<210>	15															
	<211>	361															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															

UA 121973 C2

<220>

<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 15

5

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

10

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

15

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

20

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

25

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

30

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

35

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

40

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

45

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

50

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

55

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

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

UA 121973 C2

	210		215		220												
5	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	
	225					230				235						240	
10	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	
					245					250					255		
15	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	
				260					265						270		
20	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	
			275					280						285			
25	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	
		290					295					300					
30	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	
	305					310					315					320	
35	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	
					325					330					335		
40	Leu	Ile	Gln	Asn	Thr	Thr	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	
				340					345					350			
45	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile								
			355					360									
50	<210>	16															
	<211>	227															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
55	<220>																
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
	<400>	16															
50	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	
	1				5					10					15		
55	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
				20					25					30			
	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	

UA 121973 C2

35

40

45

5 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

10 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

15 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

20 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

25 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

35 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

40 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

45 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

50 Pro Gly Lys
225

55 <210> 17
<211> 361
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

UA 121973 C2

<400> 17

5	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	1	5	10	15
10	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	20	25	30	
15	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	35	40	45	
20	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	50	55	60	
25	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	65	70	75	80
30	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	85	90	95	
35	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	100	105	110	
40	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	115	120	125	
45	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	130	135	140	
50	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	145	150	155	160
55	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	165	170	175	
	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	180	185	190	
	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	195	200	205	
	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	210	215	220	

UA 121973 C2

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 5
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Asp His Cys
 245 250 255
 10 Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser
 260 265 270
 15 Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val
 275 280 285
 20 Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala
 290 295 300
 Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp
 305 310 315 320
 25 Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val
 325 330 335
 30 Leu Ile Gln Lys Thr Asn Thr Thr Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp
 340 345 350
 35 Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 355 360
 <210> 18
 <211> 227
 40 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 45 <400> 18
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
 1 5 10 15
 50 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 55 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45

UA 121973 C2

	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
	50						55					60				
5	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
	65					70					75					80
10	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
					85					90					95	
15	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
				100					105					110		
20	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
			115					120					125			
25	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
	130						135					140				
30	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
	145					150					155					160
35	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
					165					170					175	
40	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
				180					185					190		
45	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
			195					200					205			
50	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
	210					215						220				
55	Pro	Gly	Lys													
	225															
	<210>	19														
	<211>	4														
	<212>	ПРТ														
	<213>	Штучна послідовність														
	<220>															
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду														
	<400>	19														

Gly Gly Gly Ser
1

5
<210> 20
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

10
<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 20

15
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

20 <210> 21
<211> 4
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

25 <220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 21

30 Gly Gly Ser Gly
1

35 <210> 22
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 22

45 Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

50 <210> 23
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

55 <400> 23

Gly Ser Gly Ser Gly

1		5
	<210>	24
5	<211>	5
	<212>	ПРТ
	<213>	Штучна послідовність
	<220>	
10	<223>	синтетична послідовність поліпептиду
	<400>	24
	Gly Ser Gly Gly Gly	
15	1	5
	<210>	25
	<211>	5
20	<212>	ПРТ
	<213>	Штучна послідовність
	<220>	
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду
25	<400>	25
	Gly Gly Gly Ser Gly	
30	1	5
	<210>	26
	<211>	5
	<212>	ПРТ
35	<213>	Штучна послідовність
	<220>	
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду
40	<400>	26
	Gly Ser Ser Ser Gly	
	1	5
45	<210>	27
	<211>	5
	<212>	ПРТ
	<213>	Штучна послідовність
50	<220>	
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду
	<400>	27
55	Gly Gly Gly Gly Gly	
	1	5

<210> 28
 <211> 5
 <212> ПРТ
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 10 <400> 28

 Glu Gly Gly Gly Ser
 1 5

 15
 <210> 29
 <211> 4
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 20
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(3)
 <223> амінокислота в цьому положенні може являти собою будь-яку
 амінокислоту
 30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> амінокислота в цьому положенні може являти собою будь-яку
 гідрофобну амінокислоту
 35
 <400> 29

 Pro Xaa Xaa Xaa
 1
 40

 <210> 30
 <211> 5
 <212> ПРТ
 45 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 50
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(3)
 <223> амінокислота в цьому положенні може являти собою будь-яку
 амінокислоту
 55
 <220>
 <221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)
 <223> амінокислота в цьому положенні може являти собою будь-яку
 гідрофобну амінокислоту
 <220>
 5 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> амінокислота в цьому положенні може являти собою будь-який Ser
 або Thr
 10 <400> 30
 Pro Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5
 15
 <210> 31
 <211> 6
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 20
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> амінокислота в цьому положенні може являти собою будь-який Leu
 або Gln
 30 <400> 31
 Pro Xaa Gly Met Thr Ser
 1 5
 35
 <210> 32
 <211> 5
 <212> ПРТ
 40 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 45
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> амінокислота в цьому положенні може являти собою будь-який Leu
 або Gln
 50
 <400> 32
 Pro Xaa Gly Met Thr
 55 1 5
 <210> 33

<211> 10
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 5 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 <400> 33

 10 Cys Gly Leu Val Pro Ala Gly Ser Gly Pro
 1 5 10

 <210> 34
 15 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 20 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 <400> 34

 Ser Leu Leu Lys Ser Arg Met Val Pro Asn Phe Asn
 25 1 5 10

 <210> 35
 <211> 12
 30 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 35
 <400> 35

 Ser Leu Leu Ile Ala Arg Arg Met Pro Asn Phe Asn
 40 1 5 10

 <210> 36
 <211> 12
 <212> ПРТ
 45 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 50 <400> 36

 Ser Lys Leu Val Gln Ala Ser Ala Ser Gly Val Asn
 1 5 10

 55
 <210> 37
 <211> 12
 <212> ПРТ

<213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 5 <400> 37
 Ser Ser Tyr Leu Lys Ala Ser Asp Ala Pro Asp Asn
 1 5 10
 10
 <210> 38
 <211> 12
 <212> ПРТ
 15 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 20 <400> 38
 Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met Asn
 1 5 10
 25
 <210> 39
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 30
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 39
 35
 Ser Leu Arg Pro Leu Ala Leu Trp Arg Ser Phe Asn
 1 5 10
 40
 <210> 40
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 40
 50
 Ser Pro Gln Gly Ile Ala Gly Gln Arg Asn Phe Asn
 1 5 10
 55
 <210> 41
 <211> 14
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 <400> 41
 5 Asp Val Asp Glu Arg Asp Val Arg Gly Phe Ala Ser Phe Leu
 1 5 10

 10 <210> 42
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 15 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 <400> 42

 20 Ser Leu Pro Leu Gly Leu Trp Ala Pro Asn Phe Asn
 1 5 10

 25 <210> 43
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 30 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 <400> 43

 35 Ser Leu Leu Ile Phe Arg Ser Trp Ala Asn Phe Asn
 1 5 10

 40 <210> 44
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 45 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 <400> 44

 50 Ser Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr
 1 5 10

 55 <210> 45
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 45

Ser Leu Gly Pro Gln Gly Ile Trp Gly Gln Phe Asn
 5 1 5 10

<210> 46
 <211> 12
 10 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 15 <400> 46

Lys Lys Ser Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Ser Val
 1 5 10

20 <210> 47
 <211> 12
 <212> ПРТ
 25 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 30 <400> 47

Pro Gln Gly Leu Leu Gly Ala Pro Gly Ile Leu Gly
 1 5 10

35 <210> 48
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 40 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 48
 45 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ile Glu Gly Arg
 1 5 10

50 <210> 49
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

55 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 49

	Gly	Pro	Gln	Gly	Leu	Ala	Gly	Gln	Arg	Gly	Ile	Val
	1				5					10		

5

	<210>	50
	<211>	12
	<212>	ПРТ
	<213>	Штучна послідовність

10

	<220>	
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду
	<400>	50

15

Gly	Gly	Ser	Gly	Gln	Arg	Gly	Arg	Lys	Ala	Leu	Glu
1				5					10		

20

	<210>	51
	<211>	12
	<212>	ПРТ
	<213>	Штучна послідовність

25

	<220>	
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду
	<400>	51

30

Ser	Leu	Ser	Ala	Leu	Leu	Ser	Ser	Asp	Ile	Phe	Asn
1				5					10		

35

	<210>	52
	<211>	12
	<212>	ПРТ
	<213>	Штучна послідовність

40

	<220>	
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду
	<400>	52

45

Ser	Leu	Pro	Arg	Phe	Lys	Ile	Ile	Gly	Gly	Phe	Asn
1				5					10		

50

	<210>	53
	<211>	12
	<212>	ПРТ
	<213>	Штучна послідовність

55

	<220>	
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду
	<400>	53

Ser Leu Leu Gly Ile Ala Val Pro Gly Asn Phe Asn

1 5 10

5 <210> 54
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

10 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 54

15 Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro
 1 5 10

20 <210> 55
 <211> 227
 <212> ПРТ
 <213> Homo sapiens
 <400> 55

25 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15

30 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30

35 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45

40 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60

45 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80

50 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95

55 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140

5 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 10 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 15 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 20 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 25
 <210> 56
 <211> 69
 <212> ДНК
 30 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 35 <400> 56
 accatggaca tgagggtccc cgctcagctc ctggggctcc tgctactctg gctccgaggt
 60
 gccagatgt
 40 69
 <210> 57
 <211> 383
 45 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 50
 <400> 57
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 55 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30

UA 121973 C2

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

UA 121973 C2

	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	
				260					265					270			
5	Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	
			275					280					285				
10	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	
		290					295					300					
15	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	
	305					310					315					320	
20	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	
					325					330					335		
25	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	
				340					345					350			
30	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	
			355					360					365				
35	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile		
		370					375					380					
40	<210>	58															
	<211>	249															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
	<220>																
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
45	<400>	58															
50	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	
	1				5					10					15		
55	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	
				20					25					30			
60	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	
			35					40					45				
65	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
		50					55					60					

UA 121973 C2

	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
	65					70					75					80	
5	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	
					85					90					95		
10	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
				100					105					110			
15	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
			115					120					125				
20	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	
		130					135					140					
25	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	
	145					150					155					160	
30	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
					165					170					175		
35	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
				180					185					190			
40	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
			195					200					205				
45	Thr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
		210					215					220					
50	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
	225					230					235					240	
55	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys								
					245												
	<210>	59															
	<211>	383															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
	<220>																
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
	<400>	59															

UA 121973 C2

	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
	1				5					10					15	
5	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
				20					25					30		
	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
10				35				40					45			
	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
15		50					55					60				
	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
	65					70				75						80
20																
	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
					85					90					95	
25	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
				100					105					110		
30	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			115					120					125			
	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
35		130					135					140				
	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
	145					150					155					160
40																
	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
					165					170					175	
45	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
				180					185					190		
50	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
			195					200					205			
	Thr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
		210					215					220				
55																
	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
	225					230					235					240

5 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 260 265 270
 10 Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 275 280 285
 15 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 290 295 300
 20 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 305 310 315 320
 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 325 330 335
 25 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 340 345 350
 30 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 355 360 365
 35 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 370 375 380
 40 <210> 60
 <211> 249
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 45 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 60
 50 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30
 55 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 35 40 45

UA 121973 C2

5 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 50 55 60
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 65 70 75 80
 10 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 85 90 95
 15 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 100 105 110
 20 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 115 120 125
 25 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 130 135 140
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 145 150 155 160
 30 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Tyr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 165 170 175
 35 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 180 185 190
 40 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 195 200 205
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 210 215 220
 45 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 225 230 235 240
 50 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245
 55 <210> 61
 <211> 373
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> синтетична послідовність поліпептиду

5 <400> 61

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

10

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
20 25 30

15

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
35 40 45

20

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
50 55 60

25

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
65 70 75 80

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
85 90 95

30

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
100 105 110

35

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
115 120 125

40

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
130 135 140

45

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Tyr Cys Leu
145 150 155 160

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
165 170 175

50

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
180 185 190

55

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
195 200 205

UA 121973 C2

	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
	210						215					220					
5	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	
	225					230					235					240	
10	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
					245					250					255		
15	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	
				260					265					270			
20	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	
			275					280					285				
25	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	
	290						295					300					
30	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	
	305					310					315					320	
35	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	
					325					330					335		
40	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln	Lys	
				340					345					350			
45	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	
		355						360					365				
50	Asp	Cys	His	Cys	Ile												
	370																
55	<210>	62															
	<211>	239															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
55	<220>																
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
	<400>	62															
55	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	
	1				5					10					15		

UA 121973 C2

	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	
				20					25					30			
5	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	
			35					40					45				
10	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	
		50					55					60					
15	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	
	65					70					75					80	
	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser		
				85					90					95			
20	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	
				100					105					110			
25	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	
			115					120					125				
30	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	
		130					135					140					
35	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	
	145					150					155					160	
	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
				165						170					175		
40	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
				180					185					190			
45	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Thr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
			195					200					205				
50	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
		210					215					220					
55	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
	225					230					235						
	<210>	63															
	<211>	373															

<212> ПРТ

<213> Штучна послідовність

<220>

5 <223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 63

10 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

15 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
20 25 30

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
35 40 45

20 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
50 55 60

25 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
65 70 75 80

30 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
85 90 95

35 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
100 105 110

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
115 120 125

40 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
130 135 140

45 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
145 150 155 160

50 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
165 170 175

55 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
180 185 190

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Thr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
195 200 205

UA 121973 C2

5 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 210 215 220
 10 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly
 225 230 235 240
 15 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 20 Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu
 275 280 285
 25 Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met
 290 295 300
 30 Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala
 305 310 315 320
 35 Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala
 325 330 335
 40 Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys
 355 360 365
 45 Asp Cys His Cys Ile
 370
 50 <210> 64
 <211> 239
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 55 <400> 64
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

UA 121973 C2

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

<210> 65
 <211> 383
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

5

<220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 65

10

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30

20

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 35 40 45

25

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 50 55 60

30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 85 90 95

35

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 100 105 110

40

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 115 120 125

45

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 145 150 155 160

50

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 165 170 175

55

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 180 185 190

UA 121973 C2

	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
			195					200					205			
5	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
		210					215					220				
10	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
	225					230					235					240
15	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
					245					250					255	
20	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
				260					265					270		
25	Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu
			275					280					285			
30	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val
		290					295					300				
35	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro
	305					310					315					320
40	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu
					325					330					335	
45	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala
				340					345					350		
50	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser
			355				360						365			
55	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile	
		370					375					380				
	<210>	66														
	<211>	249														
	<212>	ПРТ														
	<213>	Штучна послідовність														
	<220>															
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду														
	<400>	66														

UA 121973 C2

	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
	1				5					10					15	
5	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
				20					25					30		
10	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
			35					40					45			
15	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
		50					55					60				
20	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
	65					70					75					80
25	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
					85					90					95	
30	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
				100					105					110		
35	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			115					120					125			
40	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
		130					135					140				
45	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
	145					150					155					160
50	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
					165					170					175	
55	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
				180				185						190		
60	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
			195					200					205			
65	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
		210					215					220				
70	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
	225					230					235					240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

5

<210> 67
<211> 380
<212> ПРТ
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

15 <400> 67

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

20 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

25 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

30 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

35 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

40 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

45 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

50 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

55 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

5 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 180 185 190
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 195 200 205
 10 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 210 215 220
 15 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 225 230 235 240
 20 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 25 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 260 265 270
 Gly Ser Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val
 275 280 285
 30 Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro
 290 295 300
 35 Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe
 305 310 315 320
 40 Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu
 325 330 335
 45 Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn
 340 345 350
 Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr
 355 360 365
 50 Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 370 375 380
 55 <210> 68
 <211> 249
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> синтетична послідовність поліпептиду

5 <400> 68

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

10

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

15

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

20

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

25

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

30

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

35

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

40

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

45

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

50

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

55

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

UA 121973 C2

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 210 215 220

5 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 225 230 235 240

10 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245

<210> 69
 <211> 373
 15 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 20 <400> 69

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

25 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
 20 25 30

30 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 35 40 45

35 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 50 55 60

40 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 65 70 75 80

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 85 90 95

45 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 100 105 110

50 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 115 120 125

55 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 130 135 140

UA 121973 C2

	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	
	145					150					155					160	
5	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	
					165					170					175		
10	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
				180					185					190			
15	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
			195					200					205				
20	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
		210					215					220					
25	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
					245					250					255		
30	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	
				260					265					270			
35	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	
			275					280					285				
40	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	
		290					295					300					
45	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	
	305					310					315					320	
50	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	
					325					330					335		
55	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln	Lys	
				340					345					350			
60	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	
			355					360					365				
65	Asp	Cys	His	Cys	Ile												
					370												

<210> 70
 <211> 239
 5 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 10
 <400> 70

 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 15
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
 20 25 30
 20
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 35 40 45
 25
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 50 55 60
 30
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 65 70 75 80
 35
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 85 90 95
 40
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 100 105 110
 45
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 115 120 125
 50
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 130 135 140
 55
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
 145 150 155 160
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 165 170 175
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 180 185 190

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 195 200 205
 5
 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 210 215 220
 10
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230 235
 15 <210> 71
 <211> 370
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 20 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 71
 25 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 30 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
 20 25 30
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 35 35 40 45
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 50 55 60
 40 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 65 70 75 80
 45 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 85 90 95
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 50 100 105 110
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 115 120 125
 55 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 130 135 140

UA 121973 C2

5	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	145	150	155	160
10	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	165	170	175	
15	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	180	185	190	
20	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	195	200	205	
25	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	210	215	220	
30	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	225	230	235	240
35	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	245	250	255	
40	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	260	265	270	
45	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	275	280	285	
50	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	290	295	300	
55	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	305	310	315	320
	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	325	330	335	
	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	340	345	350	
	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	355	360	365	

Cys Ile
370

5 <210> 72
<211> 239
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

10 <220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 72

15 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

20 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val
20 25 30

25 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
35 40 45

30 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
50 55 60

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
65 70 75 80

35 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
85 90 95

40 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
100 105 110

45 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
115 120 125

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
130 135 140

50 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
145 150 155 160

55 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
165 170 175

UA 121973 C2

	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	
				180					185					190			
5	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	
			195					200					205				
10	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	
		210					215					220					
15	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
	225					230					235						
	<210>	73															
	<211>	376															
	<212>	ПРТ															
20	<213>	Штучна послідовність															
	<220>																
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
25	<400>	73															
	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	
	1				5					10					15		
30	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	
				20					25					30			
35	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	
			35					40					45				
40	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
		50					55					60					
45	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
	65					70					75					80	
	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	
					85					90					95		
50	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
				100					105					110			
55	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
			115					120					125				

UA 121973 C2

	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	
	130						135					140					
5	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	
	145					150					155					160	
10	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
					165					170					175		
15	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
				180					185					190			
20	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
			195					200					205				
25	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
	210						215					220					
30	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
	225					230					235					240	
35	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
					245					250					255		
40	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Arg	Asn	Gly	Thr	His	Cys	Pro	
				260					265					270			
45	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	
			275					280					285				
50	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	
	290						295					300					
55	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	
	305					310					315					320	
60	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	
					325					330					335		
65	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	
				340					345					350			
70	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	
			355					360					365				

Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 370 375
 5
 <210> 74
 <211> 249
 <212> ПРТ
 10 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 15 <400> 74
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 20 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30
 25 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 35 40 45
 30 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 50 55 60
 35 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 65 70 75 80
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 85 90 95
 40 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 100 105 110
 45 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 115 120 125
 50 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 130 135 140
 55 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 145 150 155 160
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 165 170 175

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 180 185 190
 5
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 195 200 205
 10
 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 210 215 220
 15
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 225 230 235 240
 20
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245
 <210> 75
 <211> 381
 25 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 30 <400> 75
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 35
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30
 40
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 35 40 45
 45
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 50 55 60
 50
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 65 70 75 80
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 85 90 95
 55
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 100 105 110

UA 121973 C2

	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			115					120					125			
5																
	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
		130					135					140				
10																
	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
	145					150					155					160
15																
	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
					165					170					175	
20																
	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
				180					185					190		
25																
	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
			195					200					205			
30																
	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
		210					215					220				
35																
	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
	225					230					235					240
40																
	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
					245					250					255	
45																
	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ala	Arg	Asn
				260					265					270		
50																
	Gly	Thr	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr
		275						280					285			
55																
	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser
		290					295					300				
60																
	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln
	305					310					315					320
65																
	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg
					325					330					335	

UA 121973 C2

	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	
				340					345					350			
5	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	
			355					360					365				
10	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile				
		370					375					380					
	<210>	76															
	<211>	249															
15	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
	<220>																
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
20	<400>	76															
	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	
	1				5					10					15		
25																	
	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	
				20					25					30			
30																	
	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	
			35					40					45				
35	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
		50					55					60					
40	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
	65					70					75				80		
	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	
					85					90					95		
45																	
	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
				100					105					110			
50																	
	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
			115					120					125				
55	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	
		130					135					140					

UA 121973 C2

	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	
	145					150					155					160	
5	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
					165					170					175		
10	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
				180					185					190			
15	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
			195					200					205				
20	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
		210					215					220					
25	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
	225					230					235					240	
30	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys								
					245												
	<210>	77															
	<211>	386															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
	<220>																
35	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
	<400>	77															
40	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	
	1				5					10					15		
45	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	
				20					25					30			
50	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	
			35					40					45				
55	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
		50					55					60					
60	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
	65					70					75					80	

UA 121973 C2

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

Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys
325 330 335

5

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

10

Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr
355 360 365

15

Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His
370 375 380

20

Cys Ile
385

25

<210> 78
<211> 369
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

30

<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 78

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

35

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

40

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

45

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

50

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

55

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

UA 121973 C2

	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			115					120					125			
5																
	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
		130					135					140				
10																
	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
	145					150					155					160
15																
	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
					165					170					175	
20																
	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
				180					185					190		
25																
	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
			195					200					205			
30																
	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
		210					215					220				
35																
	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
	225					230					235					240
40																
	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
					245					250					255	
45																
	Gly	Gly	Ser	Asn	Gly	Thr	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys
				260					265					270		
50																
	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp
			275					280					285			
55																
	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala
		290					295					300				
60																
	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr
	305					310					315					320
65																
	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val
					325					330					335	

UA 121973 C2

Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly
340 345 350

5 Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys
355 360 365

Ile

10

<210> 79
<211> 249
15 <212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

20 <400> 79

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

25 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

30 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

35 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

40 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

45 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

50 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

55 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

UA 121973 C2

	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	
	145					150					155					160	
5	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
					165					170					175		
10	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
				180					185					190			
15	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
			195					200					205				
20	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
		210					215					220					
25	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
	225					230					235					240	
30	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys								
					245												
	<210>	80															
	<211>	384															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
	<220>																
35	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
	<400>	80															
40	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	
	1				5					10					15		
45	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	
				20					25					30			
50	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	
			35					40					45				
55	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
		50					55					60					
60	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
	65					70					75					80	

UA 121973 C2

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

5 Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 325 330 335
 Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 340 345 350
 10 Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 355 360 365
 15 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 370 375 380
 20 <210> 81
 <211> 249
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 25 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 81
 30 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30
 35 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 35 40 45
 40 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 50 55 60
 45 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 65 70 75 80
 50 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 85 90 95
 55 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 100 105 110
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 115 120 125

UA 121973 C2

5	Ala 130	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu 135	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys 140	Ala	Lys	Gly	Gln
10	Pro 145	Arg	Glu	Pro	Gln	Val 150	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro 155	Ser	Arg	Glu	Glu	Met 160
15	Thr	Lys	Asn	Gln	Val 165	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala 170	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr 175	Pro
20	Ser	Asp	Ile	Ala 180	Val	Glu	Trp	Glu	Ser 185	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu 190	Asn	Asn
25	Tyr	Lys	Thr 195	Thr	Pro	Pro	Val	Leu 200	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser 205	Phe	Phe	Leu
30	Val 210	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp 215	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln 220	Gln	Gly	Asn	Val
35	Phe 225	Ser	Cys	Ser	Val	Met 230	His	Glu	Ala	Leu	His 235	Asn	His	Tyr	Thr	Gln 240
40	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu 245	Ser	Pro	Gly	Lys							
45	<210>	82														
	<211>	383														
	<212>	ПРТ														
	<213>	Штучна послідовність														
50	<220>															
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду														
	<400>	82														
55	Met 1	Asp	Met	Arg	Val 5	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu 10	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu 15	Trp
60	Leu	Arg	Gly	Ala 20	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr 25	His	Thr	Cys	Pro	Pro 30	Cys	Pro
65	Ala	Pro	Ala 35	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro 40	Ser	Val	Phe	Leu	Phe 45	Pro	Pro	Lys
70	Pro	Lys 50	Asp	Thr	Leu	Met	Ile 55	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu 60	Val	Thr	Cys	Val

UA 121973 C2

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

UA 121973 C2

	His	Thr	Val	Asn	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	
	290						295					300					
5	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	
	305					310					315					320	
10	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	
					325					330					335		
15	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	
				340					345						350		
20	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	
			355					360						365			
25	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile		
	370						375					380					
	<210>	83															
	<211>	249															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
30	<220>																
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
	<400>	83															
35	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	
	1				5					10					15		
40	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	
				20					25					30			
45	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	
			35					40					45				
50	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
		50					55					60					
55	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
	65					70					75					80	
55	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	
					85					90					95		

UA 121973 C2

	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
				100					105					110			
5	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
			115					120					125				
10	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	
		130					135					140					
15	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	
	145					150					155					160	
20	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
				165						170					175		
25	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
				180					185					190			
30	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
			195					200					205				
35	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
		210					215					220					
40	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
	225					230					235					240	
45	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys								
					245												
50	<210>	84															
	<211>	383															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
55	<220>																
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
	<400>	84															
60	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	
	1				5					10					15		
65	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	
			20						25					30			

UA 121973 C2

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

Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 275 280 285
 5
 His Thr Val Arg Ala Asn Leu Thr Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 290 295 300
 10
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 305 310 315 320
 15 Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 325 330 335
 20 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 340 345 350
 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 355 360 365
 25
 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 370 375 380
 30
 <210> 85
 <211> 249
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 35
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 85
 40
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 45 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30
 50 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 35 40 45
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 50 55 60
 55
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 85 90 95
 5
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 100 105 110
 10
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 115 120 125
 15
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 130 135 140
 20
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 145 150 155 160
 25
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 165 170 175
 30
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 180 185 190
 35
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 195 200 205
 40
 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 210 215 220
 45
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 225 230 235 240
 50
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 245
 <210> 86
 <211> 383
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 55
 <400> 86
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

UA 121973 C2

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

UA 121973 C2

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 5 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 260 265 270
 10 Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 275 280 285
 15 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 290 295 300
 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 305 310 315 320
 20 Ser Gln Asn Arg Thr Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 325 330 335
 25 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 340 345 350
 30 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 355 360 365
 35 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 370 375 380
 <210> 87
 <211> 249
 <212> ПРТ
 40 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 45 <400> 87
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 50 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30
 55 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 35 40 45

UA 121973 C2

	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
	50						55					60					
5	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
	65					70					75					80	
10	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	
					85					90					95		
15	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
				100					105					110			
20	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
			115					120					125				
25	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	
	130						135					140					
30	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	
	145					150					155					160	
35	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	
					165					170					175		
40	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
				180					185					190			
45	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
			195					200					205				
50	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
	210						215					220					
55	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
	225					230					235					240	
60	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys								
					245												
65	<210>	88															
	<211>	383															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
	<220>																

<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 88

5	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	1	5	10	15
10	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	20	25	30	
15	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	35	40	45	
20	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	50	55	60	
25	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	65	70	75	
30	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	85	90	95	
35	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	100	105	110	
40	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	115	120	125	
45	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	130	135	140	
50	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	145	150	155	
55	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	165	170	175	
	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	180	185	190	
	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	195	200	205	
	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	210	215	220	

5 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 225 230 235 240
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 10 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 260 265 270
 15 Gly Ser Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu
 275 280 285
 20 His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val
 290 295 300
 25 Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro
 305 310 315 320
 Ser Gln Phe Asn Ala Thr Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu
 325 330 335
 30 His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala
 340 345 350
 35 Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser
 355 360 365
 40 Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 370 375 380
 <210> 89
 <211> 249
 45 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 50 <400> 89
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 55 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30

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

<210> 90
 <211> 383
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

5

<220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 90

10

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 20 25 30

20

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 35 40 45

25

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 50 55 60

30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 85 90 95

35

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 100 105 110

40

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 115 120 125

45

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 130 135 140

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 145 150 155 160

50

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 165 170 175

55

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 180 185 190

UA 121973 C2

	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
			195					200					205				
5	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
		210					215					220					
10	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
	225					230					235					240	
15	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
					245					250					255		
20	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	
				260					265					270			
25	Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	
			275					280					285				
30	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	
		290					295					300					
35	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	
	305					310					315					320	
40	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	
					325					330					335		
45	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	
				340					345					350			
50	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln	Asn	Thr	Thr	Thr	Gly	Val	Ser	
			355				360						365				
55	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile		
		370					375					380					
	<210>	91															
	<211>	249															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															
	<220>																
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду															
	<400>	91															

UA 121973 C2

	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
	1				5					10					15	
5	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
				20					25					30		
	Ala	Pro	Ala	Leu	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
10			35					40					45			
	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
15		50					55					60				
	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
	65					70				75						80
20																
	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
					85					90					95	
25	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
				100					105					110		
30	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			115					120					125			
	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
35		130					135					140				
	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met
	145					150					155					160
40																
	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Ser	Cys	Ala	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
					165					170					175	
45	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn
				180					185					190		
50	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu
			195					200					205			
	Val	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val
		210					215					220				
55																
	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln
	225					230					235					240

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

5

<210> 92
<211> 383
<212> ПРТ
10 <213> Штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

15 <400> 92

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

20 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

25 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

30 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

35 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

40 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

45 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

50 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

55 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

5	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	
				180					185					190			
10	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	
			195					200					205				
15	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	
		210					215					220					
20	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	
	225					230					235					240	
25	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
					245					250					255		
30	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	
				260					265					270			
35	Gly	Ser	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	
			275					280					285				
40	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	
		290					295					300					
45	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	
	305					310					315					320	
50	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	
					325					330					335		
55	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	
				340					345					350			
60	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln	Lys	Thr	Asn	Thr	Thr	Val	Ser	
			355					360					365				
65	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile		
		370					375					380					
70	<210>	93															
	<211>	249															
	<212>	ПРТ															
	<213>	Штучна послідовність															

<220>

<223> синтетична послідовність поліпептиду

5 <400> 93

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

10

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
20 25 30

15

Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
35 40 45

20

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
50 55 60

25

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
65 70 75 80

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
85 90 95

30

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
100 105 110

35

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
115 120 125

40

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
130 135 140

45

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
145 150 155 160

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
165 170 175

50

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
180 185 190

55

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
195 200 205

UA 121973 C2

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
210 215 220

5 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
225 230 235 240

10 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 94
<211> 31
15 <212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду
20
<400> 94

His Gly Pro Glu Gly Leu Arg Val Gly Phe Tyr Glu Ser Asp Val Met
1 5 10 15
25

Gly Arg Gly His Ala Arg Leu Val His Val Glu Glu Pro His Thr
20 25 30

30
<210> 95
<211> 6
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

35
<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 95

40
Ala Arg Asn Gly Asp His
1 5

45 <210> 96
<211> 8
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

50 <220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 96

55 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
1 5

<210> 97
 <211> 8
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 5
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 97
 10
 Ala Pro Ala Leu Ala Gly Gly Pro
 1 5
 15 <210> 98
 <211> 8
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 20 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 98
 25 Ala Pro Ala Leu Leu Gly Gly Pro
 1 5
 30 <210> 99
 <211> 8
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 35 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 99
 40 Ala Pro Glu Leu Ala Gly Gly Pro
 1 5
 45 <210> 100
 <211> 15
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 50 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 100
 55 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10 15
 <210> 101
 <211> 13

<212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 5 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 <400> 101

 Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 10 1 5 10

 <210> 102
 <211> 12
 15 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 20
 <400> 102

 Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10
 25

 <210> 103
 <211> 11
 <212> ПРТ
 30 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 35 <400> 103

 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10
 40
 <210> 104
 <211> 10
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 <400> 104
 50
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10

 55 <210> 105
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 5 <400> 105
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5
 10
 <210> 106
 <211> 8
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 15
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 106
 20
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5
 25
 <210> 107
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 30
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 107
 35
 Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5
 40
 <210> 108
 <211> 134
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 45
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 108
 50
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
 20 25 30
 55
 Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
 35 40 45

5 Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
 50 55 60
 Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
 65 70 75 80
 10 Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
 85 90 95
 15 Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
 100 105 110
 20 Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
 115 120 125
 Lys Asp Cys His Cys Ile
 130
 25
 <210> 109
 <211> 134
 <212> ПРТ
 30 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 35 <400> 109
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 40 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
 20 25 30
 45 Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Asn Ala Ser Leu Glu Asp
 35 40 45
 50 Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
 50 55 60
 Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
 65 70 75 80
 55 Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
 85 90 95

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
100 105 110
5

Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
115 120 125

10

Lys Asp Cys His Cys Ile
130

15

<210> 110
<211> 134
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

20

<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду
<400> 110

25

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

30

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
20 25 30

35

Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
35 40 45

40

Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
50 55 60

45

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Asn Ala Thr Asn Met His
65 70 75 80

50

Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
85 90 95

55

Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
100 105 110

Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
115 120 125

Lys Asp Cys His Cys Ile
130

<210> 111
 <211> 134
 5 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 10
 <400> 111

 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 15
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
 20 25 30
 20
 Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
 35 40 45
 25
 Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
 50 55 60
 30
 Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
 65 70 75 80
 35
 Ala Gln Ile Lys Thr Asn Leu Thr Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
 85 90 95
 40
 Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
 100 105 110
 45
 Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
 115 120 125
 50
 Lys Asp Cys His Cys Ile
 130
 55
 <210> 112
 <211> 134
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 112

UA 121973 C2

	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
	1				5					10					15	
5	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Ala	Arg	Asn	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly
				20					25					30		
10	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp
			35					40					45			
15	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr
		50					55					60				
20	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His
	65					70					75					80
25	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Asn	Asp	Thr	Val	Pro
					85					90					95	
30	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln
				100					105					110		
35	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala
			115					120					125			
40	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile										
		130														
45	<210>	113														
	<211>	134														
	<212>	ПРТ														
	<213>	Штучна послідовність														
	<220>															
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду														
50	<400>	113														
55	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
	1				5					10					15	
50	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Ala	Arg	Asn	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly
				20					25					30		
55	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp
			35					40					45			

UA 121973 C2

	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr
	50						55					60				
5	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His
	65					70					75					80
	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro
10					85					90					95	
	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Asn
15				100					105					110		
	Lys	Thr	Asp	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala
			115					120					125			
20																
	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile										
	130															
25	<210>	114														
	<211>	134														
	<212>	ПРТ														
	<213>	Штучна послідовність														
30	<220>															
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду														
	<400>	114														
35	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
	1				5					10					15	
	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Ala	Arg	Asn	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly
40				20					25					30		
	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp
45			35					40					45			
	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr
	50						55					60				
50																
	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His
	65					70					75					80
	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro
55					85					90					95	

UA 121973 C2

	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln
				100					105					110		
5	Asn	Thr	Thr	Thr	Gly	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala
			115					120					125			
10	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile										
		130														
	<210>	115														
	<211>	134														
15	<212>	ПРТ														
	<213>	Штучна послідовність														
	<220>															
	<223>	синтетична послідовність поліпептиду														
20	<400>	115														
	Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
	1				5					10					15	
25																
	Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Ala	Arg	Asn	Gly	Asp	His	Cys	Pro	Leu	Gly
				20					25					30		
30																
	Pro	Gly	Arg	Cys	Cys	Arg	Leu	His	Thr	Val	Arg	Ala	Ser	Leu	Glu	Asp
			35					40					45			
35																
	Leu	Gly	Trp	Ala	Asp	Trp	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Glu	Val	Gln	Val	Thr
		50					55					60				
40																
	Met	Cys	Ile	Gly	Ala	Cys	Pro	Ser	Gln	Phe	Arg	Ala	Ala	Asn	Met	His
	65					70				75						80
45																
	Ala	Gln	Ile	Lys	Thr	Ser	Leu	His	Arg	Leu	Lys	Pro	Asp	Thr	Val	Pro
					85					90					95	
50																
	Ala	Pro	Cys	Cys	Val	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Pro	Met	Val	Leu	Ile	Gln
				100					105					110		
55																
	Lys	Thr	Asn	Thr	Thr	Val	Ser	Leu	Gln	Thr	Tyr	Asp	Asp	Leu	Leu	Ala
			115					120					125			
55																
	Lys	Asp	Cys	His	Cys	Ile										
		130														

<210> 116
 <211> 134
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 5
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 116
 10
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 15 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
 20 25 30
 20 Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
 35 40 45
 Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
 50 55 60
 25
 Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
 65 70 75 80
 30
 Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
 85 90 95
 35 Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
 100 105 110
 40 Lys Thr Asp Thr Asn Val Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
 115 120 125
 Lys Asp Cys His Cys Ile
 130
 45
 <210> 117
 <211> 134
 <212> ПРТ
 50 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 55 <400> 117
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15

5 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
 20 25 30
 Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
 35 40 45
 10 Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
 50 55 60
 15 Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
 65 70 75 80
 20 Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
 85 90 95
 25 Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
 100 105 110
 Lys Thr Asp Thr Gly Val Asn Leu Thr Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
 115 120 125
 30 Lys Asp Cys His Cys Ile
 130
 35 <210> 118
 <211> 134
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 40 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 118
 45 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 50 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Ala Arg Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly
 20 25 30
 Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp
 35 40 45
 55 Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr
 50 55 60

Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His
 65 70 75 80
 5
 Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro
 85 90 95
 10
 Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln
 100 105 110
 15 Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Asn Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala
 115 120 125
 20 Lys Asp Cys His Cys Ile
 130
 <210> 119
 <211> 17
 25 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 30 <400> 119
 Asn Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His
 1 5 10 15
 35 Thr
 40
 <210> 120
 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 45 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 50 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(5)
 <223> ця ділянка амінокислот може повторюватись до 50 разів
 <400> 120
 55 Gly Ser Gly Gly Ser
 1 5

<210> 121
 <211> 5
 <212> ПРТ
 5 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 10
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> ця амінокислота може повторюватись до 20 разів
 15
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(5)
 <223> ця ділянка амінокислот може повторюватись до 20 разів
 20
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> ця амінокислота може повторюватись до 20 разів
 25
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> ця амінокислота може повторюватись до 20 разів
 30
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> ця амінокислота може повторюватись до 20 разів
 35
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> ця амінокислота може повторюватись до 20 разів
 40
 <400> 121

 Gly Ser Gly Ser Gly
 1 5
 45

 <210> 122
 <211> 5
 <212> ПРТ
 50 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду

 55
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(5)

<223> ця ділянка амінокислот може повторюватись до 20 разів
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 5 <222> (5)..(5)
 <223> ця амінокислота може повторюватись до 20 разів
 <400> 122
 10 Gly Ser Gly Gly Ser
 1 5
 <210> 123
 15 <211> 5
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 20 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 25 <222> (1)..(5)
 <223> ця ділянка амінокислот може повторюватись до 20 разів
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 30 <222> (2)..(2)
 <223> ця амінокислота може повторюватись до 20 разів
 <400> 123
 35 Gly Ser Gly Ser Gly
 1 5
 <210> 124
 40 <211> 4
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 45 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 50 <222> (1)..(4)
 <223> ця ділянка амінокислот може повторюватись до 20 разів
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 55 <222> (4)..(4)
 <223> ця амінокислота може повторюватись до 20 разів
 <400> 124

Gly Gly Gly Ser
1

5
<210> 125
<211> 4
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

10
<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

15
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(4)
<223> ця ділянка амінокислот може повторюватись до 50 разів

20
<400> 125

Gly Gly Gly Ser
1

25
<210> 126
<211> 5
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

30
<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

35
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(5)
<223> ця ділянка амінокислот може повторюватись до 50 разів

40
<400> 126

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

45
<210> 127
<211> 227
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

50
<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 127

55
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Ala Leu Ala Gly
1 5 10 15

UA 121973 C2

	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
				20					25					30			
5	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	
			35					40					45				
10	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	
		50					55					60					
15	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	
	65					70					75					80	
20	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	
					85					90					95		
25	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	
				100					105					110			
30	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	
			115					120					125				
35	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	
		130					135					140					
40	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	
	145					150					155					160	
45	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	
					165					170					175		
50	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	
				180					185					190			
55	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	
			195					200					205				
60	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	
		210					215					220					
65	Pro	Gly	Lys														
	225																
70	<210>																128

<211> 112
 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 5 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 <400> 128
 10 Ala Arg Asn Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg
 1 5 10 15
 15 Leu His Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp
 20 25 30
 20 Val Leu Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys
 35 40 45
 Pro Ser Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser
 50 55 60
 25 Leu His Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro
 65 70 75 80
 30 Ala Ser Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val
 85 90 95
 35 Ser Leu Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
 100 105 110
 <210> 129
 <211> 110
 40 <212> ПРТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> синтетична послідовність поліпептиду
 45 <400> 129
 Asn Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His
 1 5 10 15
 50 Thr Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu
 20 25 30
 55 Ser Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser
 35 40 45

Gln Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His
50 55 60

5

Arg Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser
65 70 75 80

10 Tyr Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu
85 90 95

15 Gln Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105 110

<210> 130
<211> 109
20 <212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

25 <400> 130

Gly Thr His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
1 5 10 15

30 Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
20 25 30

35 Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln
35 40 45

40 Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
50 55 60

45 Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
65 70 75 80

Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln
85 90 95

50 Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105

55 <210> 131
<211> 109
<212> ПРТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> синтетична послідовність поліпептиду

5 <400> 131

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
1 5 10 15

10 Val Asn Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
20 25 30

15 Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln
35 40 45

20 Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
50 55 60

25 Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
65 70 75 80

30 Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln
85 90 95

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105

35 <210> 132
<211> 109
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

40 <220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

45 <400> 132

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
1 5 10 15

50 Val Arg Ala Asn Leu Thr Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
20 25 30

55 Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln
35 40 45

Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg

UA 121973 C2

	50		55		60
5	Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr				
	65		70		75 80
10	Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln				
		85		90	95
15	Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile				
		100		105	
	<210> 133				
	<211> 109				
	<212> ПРТ				
	<213> Штучна послідовність				
20	<220>				
	<223> синтетична послідовність поліпептиду				
25	<400> 133				
	Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr				
	1	5		10	15
30	Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser				
		20		25	30
35	Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln				
		35		40	45
40	Asn Arg Thr Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg				
		50		55	60
45	Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr				
	65		70		75 80
50	Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln				
		85		90	95
55	Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile				
		100		105	
	<210> 134				
	<211> 109				
	<212> ПРТ				
	<213> Штучна послідовність				

<220>

<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 134

5

Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
1 5 10 15

10 Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
20 25 30

15 Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln
35 40 45

20 Phe Asn Ala Thr Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
65 70 75 80

25 Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asp Thr Gly Val Ser Leu Gln
85 90 95

30 Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105

<210> 135

35 <211> 109

<212> ПРТ

<213> Штучна послідовність

<220>

40 <223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 135

45 Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
1 5 10 15

Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
20 25 30

50

Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln
35 40 45

55

Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
50 55 60

Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
65 70 75 80

5 Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Asn Thr Thr Thr Gly Val Ser Leu Gln
85 90 95

10 Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105

15 <210> 136
<211> 109
<212> ПРТ
<213> Штучна послідовність

20 <220>
<223> синтетична послідовність поліпептиду

<400> 136

25 Gly Asp His Cys Pro Leu Gly Pro Gly Arg Cys Cys Arg Leu His Thr
1 5 10 15

30 Val Arg Ala Ser Leu Glu Asp Leu Gly Trp Ala Asp Trp Val Leu Ser
20 25 30

35 Pro Arg Glu Val Gln Val Thr Met Cys Ile Gly Ala Cys Pro Ser Gln
35 40 45

40 Phe Arg Ala Ala Asn Met His Ala Gln Ile Lys Thr Ser Leu His Arg
50 55 60

45 Leu Lys Pro Asp Thr Val Pro Ala Pro Cys Cys Val Pro Ala Ser Tyr
65 70 75 80

50 Asn Pro Met Val Leu Ile Gln Lys Thr Asn Thr Thr Val Ser Leu Gln
85 90 95

Thr Tyr Asp Asp Leu Leu Ala Lys Asp Cys His Cys Ile
100 105

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Комплекс, що має активність фактора диференціації росту 15 (GDF15), який містить перший гетеродимер і другий гетеродимер, при цьому кожен з них містить:
- 55 (i) перший поліпептид, який містить, від N-кінця до C-кінця:
Fc-послідовність IgG людини, яка містить шарнірну ділянку і послідовність CH3, яка містить щонайменше один сконструйований виступ, який містить щонайменше одну заміну відповідної

амінокислоти в Fc-послідовності IgG1 людини, причому заміна є вибраною з групи, яка складається з Q347W/Y, T366W/Y і T394W/Y відповідно до нумерації EU; і
(ii) другий поліпептид, який містить, від N-кінця до C-кінця:

Fc-послідовність IgG людини, яка містить шарнірну ділянку і послідовність CH3, яка містить щонайменше одну сконструйовану западину, яка містить щонайменше одну заміну відповідної амінокислоти в Fc-послідовності IgG1 людини, причому заміна є вибраною з групи, яка складається з T366S, L368A, T394S, F405T/V/A і Y407T/V/A відповідно до нумерації EU;

причому перший поліпептид димеризовано з другим поліпептидом через позиціонування виступу першого поліпептиду в западину другого поліпептиду, причому або C-кінець першого поліпептиду, або C-кінець другого поліпептиду кон'юговано з N-кінцем мутеїну GDF15 через лінкер, при цьому мутеїн GDF15 містить безперервну амінокислотну послідовність довжиною щонайменше 98 амінокислот і щонайменше на 95 % ідентичну амінокислотній послідовності SEQ ID NO:1, причому C-кінцева амінокислота мутеїну GDF15 відповідає ізолейцину в положенні 112 в SEQ ID NO:1, і ця безперервна амінокислотна послідовність не містить перші дві амінокислоти, які присутні на N-кінці SEQ ID NO:1, і при цьому мутеїн GDF15 містить заміну D5T у порівнянні з амінокислотною послідовністю SEQ ID NO:1, і причому мутеїн GDF15 в першому гетеродимері димеризовано з мутеїном GDF15 у другому гетеродимері, тим самим формуючи комплекс, який містить перший гетеродимер і другий гетеродимер.

2. Комплекс за п. 1, який **відрізняється** тим, що:

згаданий перший поліпептид містить, від N-кінця до C-кінця:

згадану Fc-послідовність IgG людини, яка містить шарнірну ділянку і згадану послідовність CH3, яка містить щонайменше один сконструйований виступ;

згаданий лінкер, і

згаданий мутеїн GDF15; і

згаданий другий поліпептид містить, від N-кінця до C-кінця:

згадану Fc-послідовність IgG людини, яка містить шарнірну ділянку і згадану послідовність CH3, яка містить щонайменше одну сконструйовану западину.

3. Комплекс за п. 1 або п. 2, який **відрізняється** тим, що Fc IgG згаданого першого поліпептиду являє собою Fc IgG1.

4. Комплекс за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що Fc IgG згаданого другого поліпептиду являє собою Fc IgG1.

5. Комплекс за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що згаданий перший поліпептид містить заміну T366W.

6. Комплекс за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що згаданий другий поліпептид містить заміни T366S, L368A і Y407V.

7. Комплекс за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що згаданий перший поліпептид додатково містить послідовність CH2.

8. Комплекс за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що згаданий другий поліпептид додатково містить послідовність CH2.

9. Комплекс за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що згаданий мутеїн GDF15 містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO:129.

10. Комплекс за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що згаданий мутеїн GDF15 складається з амінокислотної послідовності SEQ ID NO:129.

11. Комплекс за будь-яким із пп. 1-10, який **відрізняється** тим, що лінкер містить послідовність гліцин-гліцин-гліцин-гліцин-серин (G₄S)_n, при цьому n=2-5.

12. Комплекс за будь-яким із пп. 1-10, який **відрізняється** тим, що лінкер містить послідовність (G₄S)₃ або (G₄S)₅.

13. Комплекс за будь-яким із пп. 1-12, який **відрізняється** тим, що перший поліпептид містить амінокислотну послідовність, визначену SEQ ID NO:3.

14. Комплекс за п. 13, який **відрізняється** тим, що другий поліпептид містить амінокислотну послідовність, визначену SEQ ID NO:4.

15. Комплекс за будь-яким із пп. 1-12, який **відрізняється** тим, що перший поліпептид містить амінокислотну послідовність, визначену SEQ ID NO:5.

16. Комплекс за будь-яким із попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що згаданий мутеїн GDF15 є N-глікозилованим.

17. Комплекс, що має активність фактора диференціації росту 15 (GDF15), який містить перший гетеродимер і другий гетеродимер, при цьому кожен з них містить: перший поліпептид, який містить амінокислотну послідовність, визначену SEQ ID NO:5, і другий поліпептид, який містить амінокислотну послідовність, визначену SEQ ID NO:6, при цьому згаданий перший поліпептид є

N-глікозилованим, і при цьому згаданий перший поліпептид димеризовано зі згаданим другим поліпептидом.

18. Нуклеїнова кислота, яка кодує перший поліпептид, охарактеризований у будь-якому із попередніх пунктів.

5 19. Нуклеїнова кислота за п. 18, яка функціонально зв'язана з елементом, який контролює експресію, що забезпечує експресію першого поліпептиду з нуклеїнової кислоти.

20. Нуклеїнова кислота, яка кодує другий поліпептид, охарактеризований у будь-якому із пп. 1-17.

10 21. Нуклеїнова кислота за п. 20, яка функціонально зв'язана з елементом, який контролює експресію, що забезпечує експресію другого поліпептиду з нуклеїнової кислоти.

22. Експресуючий вектор, який містить нуклеїнову кислоту за будь-яким із пп. 18-21.

23. Експресуючий вектор, який містить нуклеїнову кислоту за п. 18 або п. 19 та нуклеїнову кислоту за п. 20 або п. 21.

24. Вектор за п. 22 або п. 23, який являє собою вірусний вектор.

15 25. Клітина-хазяїн, яка містить нуклеїнову кислоту за п. 18 або п. 19 та нуклеїнову кислоту за п. 20 або п. 21.

26. Клітина-хазяїн, яка містить вектор за п. 22, який містить нуклеїнову кислоту за будь-яким з пп. 18 або 19, і вектор за п. 22, який містить нуклеїнову кислоту за будь-яким з пп. 20 або 21.

20 27. Фармацевтична композиція, що має активність GDF15, яка містить комплекс за будь-яким із пп. 1-17 і фармацевтично прийнятний розчинник, носій або допоміжну речовину.

28. Спосіб лікування ожиріння у суб'єкта, який включає введення суб'єкту комплексу за будь-яким із пп. 1-17, причому комплекс вводять у кількості, яка є ефективною для лікування або профілактики ожиріння у суб'єкта.

25 29. Спосіб лікування або профілактики гіперглікемії у суб'єкта, який включає введення суб'єкту комплексу за будь-яким із пп. 1-17, причому комплекс вводять у кількості, яка є ефективною для лікування або профілактики гіперглікемії у суб'єкта.

30. Спосіб за п. 29, який **відрізняється** тим, що суб'єкт має цукровий діабет.

31. Спосіб за будь-яким із пп. 28-30, який **відрізняється** тим, що суб'єктом є людина.

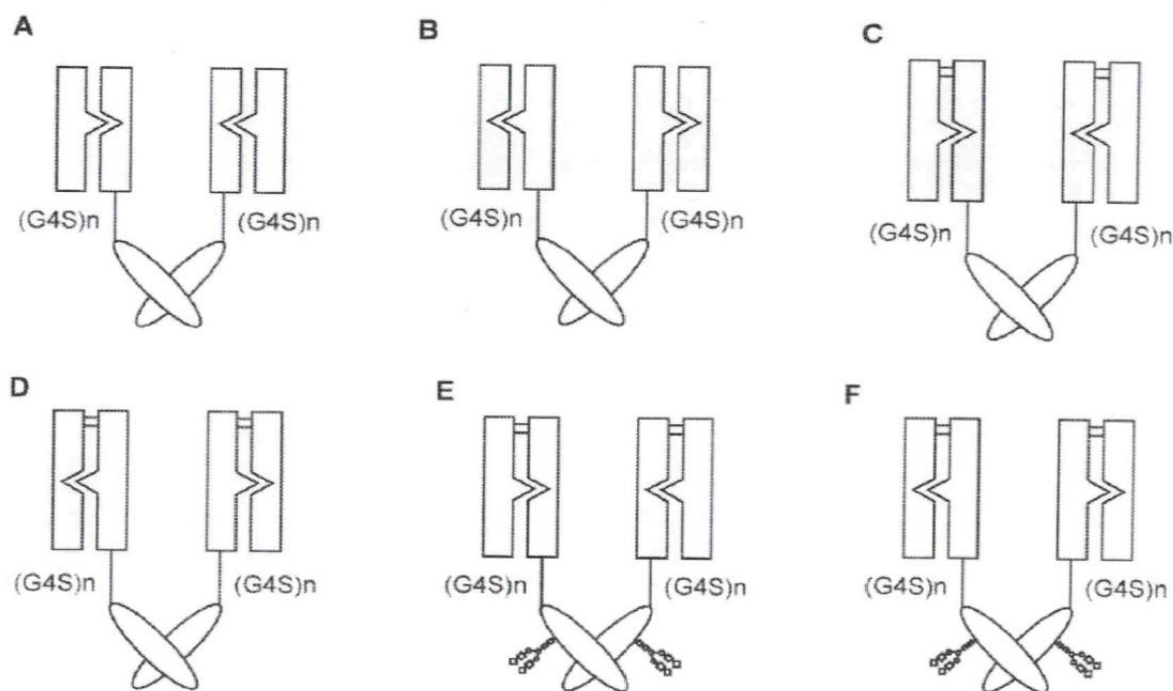
32. Спосіб за будь-яким із пп. 28-31, який **відрізняється** тим, що суб'єкт страждає на ожиріння.

30 33. Спосіб за будь-яким із пп. 28-32, який **відрізняється** тим, що введення здійснюють за допомогою парентеральної ін'єкції.

34. Спосіб за п. 33, який **відрізняється** тим, що парентеральна ін'єкція є підшкірною.

35 35. Спосіб за будь-яким із пп. 28-34, який **відрізняється** тим, що введення включає введення комплексу щодня, два рази на тиждень, один раз на тиждень, один раз на 2 тижні або один раз на місяць.

Фігура 1 – Конструкції висутні-в-западину молекул (Fc/Fc)-GDF15



Фіг. 1

Фігура 2А – Відновлення сконструйованих висутні-в-западину молекул (Fc/Fc)-GDF15

Fc-GDF15 ланцюг А	Ланцюг-партнер Fc-гетеродимеру (висутні/западина)	Номер варіанту	GDF15 мутей (глікозильовані)	Відновлення (мг/л)
hlgG1-Fc(AA)(T366Y)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(AA)(Y407T)	B1a/B1b	Hi	<25
hlgG1-Fc(AA)(Y407T)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(AA)(T366Y)	B2a/B2b	Hi	25-49,9
hlgG1-Fc(Δшарнір, AA)(T366Y)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(Δшарнір, AA)(Y407T)	B3a/B3b	Hi	50-74,9
hlgG1-Fc(Δшарнір, AA)(Y407T)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(Δшарнір, AA)(T366Y)	B4a/B4b	Hi	<25
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B5a/B5b	Hi	<25
hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)-(G4S) ₂ -ΔN6-GDF15 (C7-I112)	hlgG1-Fc(AA)(T366W)	B6a/B6b	Hi	<25
hlgG1-Fc(Δшарнір, AA)(T366W)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)	hlgG1-Fc(Δшарнір, AA)(T366S,L368A,Y407V)	B7a/B7b	Hi	25-49,9
hlgG1-Fc(Δшарнір, AA)(T366S,L368A,Y407V)-(G4S) ₂ -ΔN6-GDF15 (C7-I112)	hlgG1-Fc(Δшарнір, AA)(T366W)	B8a/B8b	Hi	N/A
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₂ -GDF15 (A1-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B9a/B9b	TAK	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₄ -GDF15 (A1-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B10a/B10b	TAK	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₂ -GDF15 (A1-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B11a/B11b	TAK	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₂ -ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B12a/B12b	TAK	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₂ -ΔN2-GDF15 (N3-I112) (D5T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B13a/B13b	TAK	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R21N)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B14a/B14b	TAK	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(S23N/E25T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B15a/B15b	TAK	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(F52N/A54T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B16a/B16b	TAK	>100
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(R53N/A55T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B17a/B17b	TAK	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112) (K91N/D93T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B18a/B18b	TAK	75-99
hlgG1-Fc(AA)(T366W)-(G4S) ₂ -ΔN3-GDF15 (G4-I112)(D93N/G95T)	hlgG1-Fc(AA)(T366S,L368A,Y407V)	B19a/B19b	TAK	50-74,9

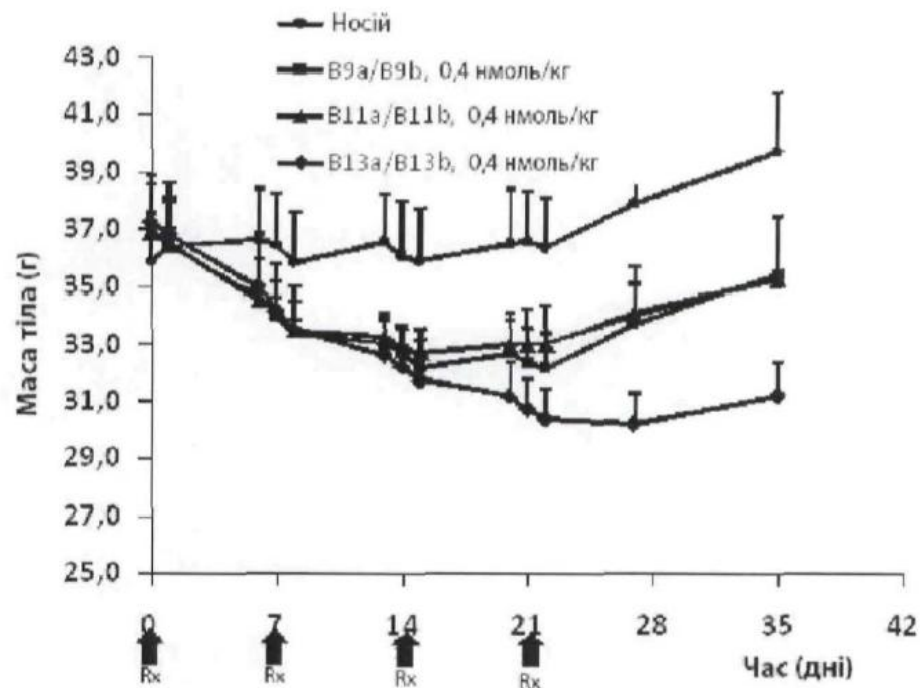
Фіг. 2А

Фігура 2В – Відновлення глікомутейнів GDF15

Гліковаріант	Відновлення (мг/л)
hGDF15 дикий тип	< 0,99
R21N	< 0,99
R53N/A55T	4 - 7,99
S64N/H66T	16 - 31,99
P70N	2 - 3,99
Q90N	4 - 7,99
K91N/D93T	16 - 31,99
D93N/G95T	8 - 15,99
G95N	8 - 15,99
S97N/Q99T	8 - 15,99
L98N	4 - 7,99

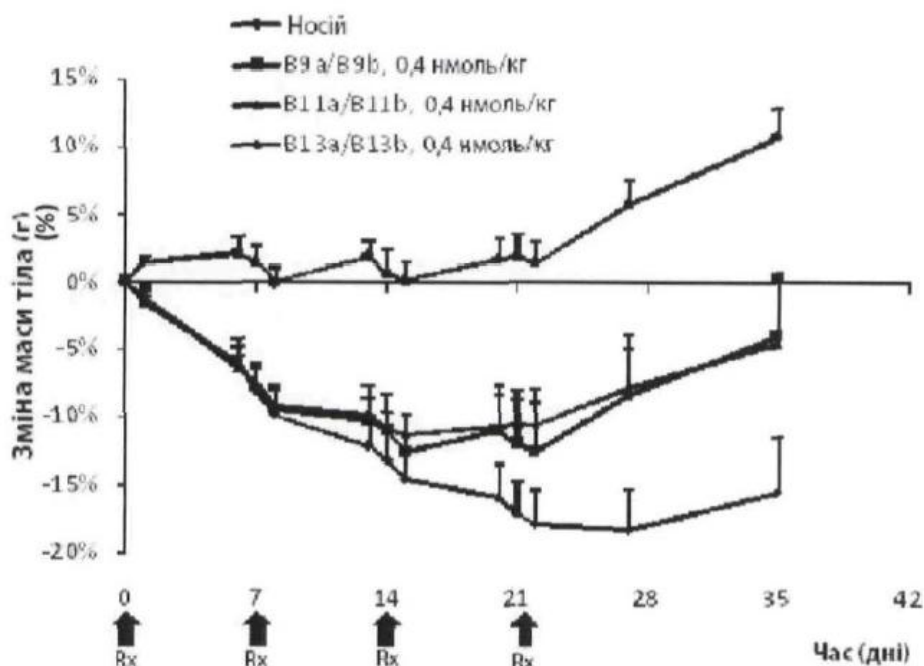
Фіг. 2В

Фігура 3 – Зменшення маси тіла в мишачій моделі DIO при доставці 0,4 нмоль/кг молекул (Fc/Fc)-GDF15



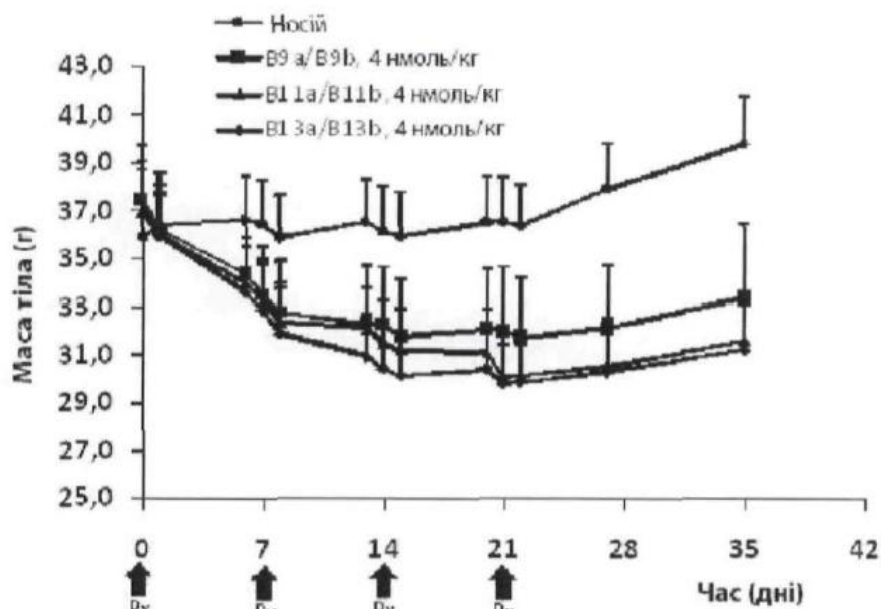
Фіг. 3

Фігура 4 – Відсоток зменшення маси тіла в мишачій моделі DIO при доставці 0,4 нмоль/кг молекул (Fc/Fc)-GDF15



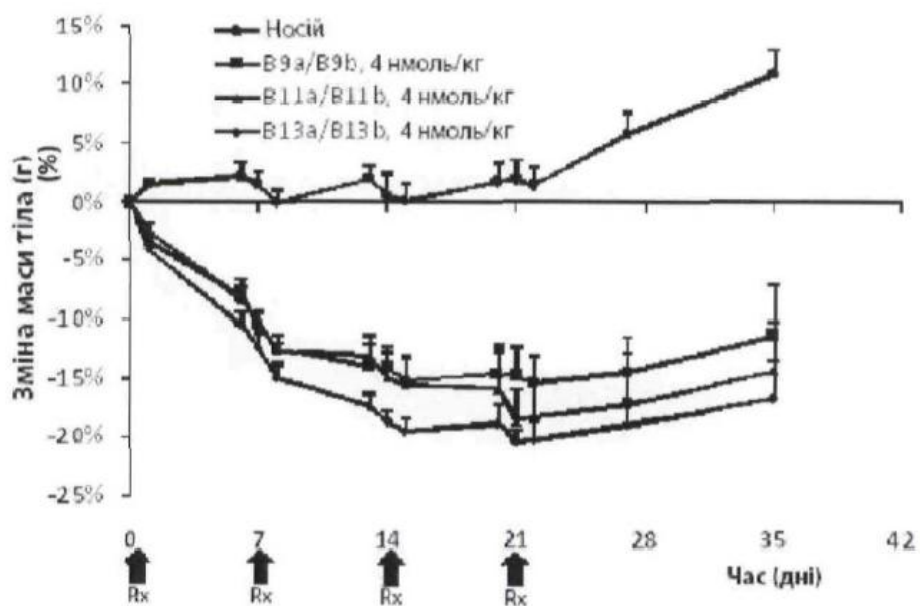
Фіг. 4

Фігура 5 - Зменшення маси тіла в мишачій моделі DIO при доставці 4,0 нмоль/кг молекул (Fc/Fc)-GDF15



Фіг. 5

Фігура 6 – Відсоток зменшення маси тіла в мишачій моделі DIO при доставці 4,0 нмоль/кг молекул (Fc/Fc)-GDF15



Фіг. 6

Фігура 7 – Маса тіла (г) у DIO мишей в кожній точці часу для 0,4 нмоль/кг і 4,0 нмоль/кг молекул (Fc/Fc)-GDF15

	Д 0	Д 1	Д 6	Д 7	Д 8	Д 13	Д 14	Д 15	Д 20	Д 21	Д 22	Д 27	Д 35
Носій	35,9	36,4	36,6	36,4	35,9	36,6	36,1	35,9	36,5	36,6	36,4	37,9	39,8
B9a/B9b 0,4 нмоль/кг	37,0	36,4	34,7	34,0	33,4	33,0	32,8	32,2	32,7	32,4	32,2	33,7	35,5
B9a/B9b 4 нмоль/кг	37,4	36,2	34,4	33,5	32,8	32,3	32,2	31,8	32,1	32,0	31,7	32,1	33,4
B11a/B11b 0,4 нмоль/кг	36,9	36,5	34,5	34,2	33,5	33,3	32,9	32,7	33,0	33,0	33,0	34,1	35,3
B11a/B11b 4 нмоль/кг	37,0	36,0	34,0	33,3	32,3	32,1	31,5	31,2	31,1	30,1	30,2	30,6	31,6
B13a/B13b 0,4 нмоль/кг	37,2	36,8	35,0	34,2	33,5	32,7	32,2	31,8	31,2	30,7	30,4	30,2	31,2
B13a/B13b 4 нмоль/кг	37,4	35,9	33,6	32,9	31,9	31,0	30,5	30,2	30,4	29,8	29,9	30,4	31,2

sem	Д 0	Д 1	Д 6	Д 7	Д 8	Д 13	Д 14	Д 15	Д 20	Д 21	Д 22	Д 27	Д 35
Носій	1,77	1,72	1,81	1,87	1,78	1,74	1,92	1,84	1,89	1,82	1,76	1,87	2,04
B9a/B9b 0,4 нмоль/кг	1,58	1,58	1,30	1,17	1,13	0,91	0,93	0,99	1,16	1,21	1,23	1,39	2,01
B9a/B9b 4 нмоль/кг	2,32	2,35	2,27	2,12	2,14	2,39	2,37	2,35	2,47	2,63	2,51	2,61	3,15
B11a/B11b 0,4 нмоль/кг	0,59	0,58	0,52	0,47	0,45	0,77	0,69	0,82	1,15	1,23	1,35	1,69	2,15
B11a/B11b 4 нмоль/кг	1,70	1,78	1,89	1,76	1,65	1,69	1,76	1,76	1,81	1,72	1,68	1,93	1,87
B13a/B13b 0,4 нмоль/кг	1,69	1,80	1,81	1,64	1,55	1,44	1,33	1,36	1,21	1,09	1,02	1,07	1,17
B13a/B13b 4 нмоль/кг	1,70	1,75	1,96	1,94	1,87	1,70	1,66	1,69	1,71	1,64	1,63	1,71	1,97

Fig. 7

Фігура 8 – Зміна загальної маси тіла (г) у мишачій моделі DIO в кожній точці часу для 0,4 нмоль/кг і 4,0 нмоль/кг молекул (Fc/Fc)-GDF15

	Д 0	Д 1	Д 6	Д 7	Д 8	Д 13	Д 14	Д 15	Д 20	Д 21	Д 22	Д 27	Д 35
Носій	0,0	0,5	0,8	0,5	0,0	0,7	0,2	0,0	0,6	0,7	0,5	2,1	3,9
B9a/B9b 0,4 нмоль/кг	0,0	-0,6	-2,3	-3,0	-3,6	-4,0	-4,2	-4,8	-4,3	-4,6	-4,8	-3,3	-1,5
B9a/B9b 4 нмоль/кг	0,0	-1,2	-3,0	-4,0	-4,6	-5,1	-5,2	-5,6	-5,3	-5,4	-5,7	-5,3	-4,1
B11a/B11b 0,4 нмоль/кг	0,0	-0,4	-2,4	-2,8	-3,4	-3,7	-4,1	-4,2	-4,0	-3,9	-3,9	-2,9	-1,6
B11a/B11b 4 нмоль/кг	0,0	-1,0	-3,0	-3,7	-4,7	-4,9	-5,5	-5,8	-5,9	-6,9	-6,8	-6,4	-5,4
B13a/B13b 0,4 нмоль/кг	0,0	-0,4	-2,2	-3,1	-3,7	-4,6	-5,0	-5,5	-6,0	-6,5	-6,8	-7,0	-6,0
B13a/B13b 4 нмоль/кг	0,0	-1,5	-3,9	-4,5	-5,5	-6,5	-7,0	-7,3	-7,0	-7,6	-7,6	-7,1	-6,2

sem	Д 0	Д 1	Д 6	Д 7	Д 8	Д 13	Д 14	Д 15	Д 20	Д 21	Д 22	Д 27	Д 35
Носій	0,00	0,16	0,43	0,38	0,37	0,38	0,60	0,50	0,53	0,59	0,53	0,61	0,77
B9a/B9b 0,4 нмоль/кг	0,00	0,21	0,48	0,59	0,75	1,06	1,08	1,14	1,38	1,30	1,44	1,31	1,54
B9a/B9b 4 нмоль/кг	0,00	0,17	0,53	0,47	0,46	0,58	0,58	0,68	0,79	0,80	0,76	1,02	1,51
B11a/B11b 0,4 нмоль/кг	0,00	0,22	0,35	0,52	0,47	0,45	0,50	0,60	0,86	0,91	0,99	1,43	1,88
B11a/B11b 4 нмоль/кг	0,00	0,30	0,31	0,34	0,26	0,69	0,77	0,82	1,22	1,03	1,22	1,60	1,58
B13a/B13b 0,4 нмоль/кг	0,00	0,34	0,65	0,84	0,80	0,92	1,01	0,91	1,07	1,12	1,16	1,31	1,62
B13a/B13b 4 нмоль/кг	0,00	0,13	0,34	0,37	0,29	0,31	0,29	0,31	0,62	0,36	0,57	0,83	1,13

Непараметричний t-тест	Д 0	Д 1	Д 6	Д 7	Д 8	Д 13	Д 14	Д 15	Д 20	Д 21	Д 22	Д 27	Д 35
Носій													
B9a/B9b 0,4 нмоль/кг		**	***	***	**	**	**	**	**	**	**	**	*
B9a/B9b 4 нмоль/кг		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B11a/B11b 0,4 нмоль/кг		**	***	***	***	***	***	***	**	**	**	**	*
B11a/B11b 4 нмоль/кг		**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 0,4 нмоль/кг		*	**	**	**	***	**	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 4 нмоль/кг		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***

Fig. 8

Фігура 9 - Відсоток зменшення маси тіла (%) у DIO миші в кожній точці часу для 0,4 нмоль/кг і 4,0 нмоль/кг молекул (Fc/Fc)-GDF15

	Д0	Д1	Д6	Д7	Д8	Д13	Д14	Д15	Д20	Д21	Д22	Д27	Д35
Носій	0,0 %	1,5 %	2,2 %	1,5 %	0,0 %	2,0 %	0,6 %	0,1 %	1,8 %	1,9 %	1,4 %	5,8 %	10,8 %
B9a/B9b 0,4 нмоль/кг	0,0 %	-1,6 %	-6,0 %	-7,9 %	-9,5 %	-10,3 %	-11,0 %	-12,6 %	-11,0 %	-12,1 %	-12,6 %	-8,4 %	-4,0 %
B9a/B9b 4 нмоль/кг	0,0 %	-3,3 %	-8,1 %	-10,6 %	-12,4 %	-13,9 %	-14,1 %	-15,2 %	-14,5 %	-14,8 %	-15,5 %	-14,4 %	-11,4 %
B11a/B11b 0,4 нмоль/кг	0,0 %	-1,1 %	-6,4 %	-7,4 %	-9,2 %	-9,9 %	-11,0 %	-11,4 %	-10,8 %	-10,6 %	-10,7 %	-7,9 %	-4,5 %
B11a/B11b 4 нмоль/кг	0,0 %	-2,6 %	-8,3 %	-10,2 %	-12,6 %	-13,2 %	-14,9 %	-15,6 %	-15,9 %	-18,6 %	-18,4 %	-17,2 %	-14,4 %
B13a/B13b 0,4 нмоль/кг	0,0 %	-1,1 %	-6,0 %	-8,2 %	-9,9 %	-12,2 %	-13,2 %	-14,5 %	-15,9 %	-17,1 %	-17,9 %	-18,4 %	-15,5 %
B13a/B13b 4 нмоль/кг	0,0 %	-4,1 %	-10,5 %	-12,3 %	-14,9 %	-17,4 %	-18,8 %	-19,5 %	-18,8 %	-20,5 %	-20,3 %	-19,0 %	-16,7 %

sem	Д0	Д1	Д6	Д7	Д8	Д13	Д14	Д15	Д20	Д21	Д22	Д27	Д35
Носій	0,00 %	0,48 %	1,27 %	1,14 %	1,10 %	1,10 %	1,77 %	1,48 %	1,56 %	1,69 %	1,52 %	1,77 %	2,09 %
B9a/B9b 0,4 нмоль/кг	0,00 %	0,60 %	1,25 %	1,45 %	1,86 %	2,65 %	2,63 %	2,77 %	3,46 %	3,24 %	3,58 %	3,49 %	4,29 %
B9a/B9b 4 нмоль/кг	0,00 %	0,58 %	1,53 %	1,13 %	1,19 %	1,85 %	1,86 %	2,09 %	2,36 %	2,52 %	2,35 %	3,01 %	4,37 %
B11a/B11b 0,4 нмоль/кг	0,00 %	0,59 %	0,89 %	1,29 %	1,16 %	1,23 %	1,32 %	1,63 %	2,38 %	2,54 %	2,77 %	3,94 %	5,16 %
B11a/B11b 4 нмоль/кг	0,00 %	0,86 %	1,00 %	1,00 %	0,76 %	1,83 %	2,09 %	2,25 %	3,23 %	2,68 %	3,13 %	4,24 %	4,09 %
B13a/B13b 0,4 нмоль/кг	0,00 %	0,92 %	1,82 %	2,12 %	1,98 %	2,22 %	2,35 %	2,14 %	2,46 %	2,46 %	2,55 %	3,04 %	3,97 %
B13a/B13b 4 нмоль/кг	0,00 %	0,44 %	1,15 %	1,22 %	1,11 %	1,03 %	0,96 %	1,04 %	1,72 %	1,13 %	1,57 %	2,24 %	3,15 %

Непараметричний
t-тест

	Д0	Д1	Д6	Д7	Д8	Д13	Д14	Д15	Д20	Д21	Д22	Д27	Д35
Носій													
B9a/B9b 0,4 нмоль/кг		**	***	***	**	**	**	**	**	**	**	**	*
B9a/B9b 4 нмоль/кг		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B11a/B11b 0,4 нмоль/кг		**	***	***	***	***	***	***	***	***	**	*	*
B11a/B11b 4 нмоль/кг		**	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 0,4 нмоль/кг		*	**	**	**	***	***	***	***	***	***	***	***
B13a/B13b 4 нмоль/кг		***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***

Фіг. 9

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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