



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **110041** (13) **C2**
(51) МПК (2015.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 29/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2013 07255	(72) Винахідник(и):	Классон Брендан Дж. (US), Скокос Дімітріс (US)
(22) Дата подання заявки:	08.11.2011	(73) Власник(и):	РЕДЖЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ІНК., 777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.11.2015	(74) Представник:	Гренчук Марія Олександрівна, реєстр. №120
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/411,276, 61/478,309	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2009/064854 A2, 22.05.2009
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	08.11.2010, 22.04.2011		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.07.2013, Бюл.№ 14		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.11.2015, Бюл.№ 21		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/US2011/059675, 08.11.2011		

(54) ЛЮДСЬКІ АНТИТІЛА ДО ЛЮДСЬКОГО, ПОДІБНОГО ДО TNF ЛІГАНДУ 1A (TL1A)

(57) Реферат:

Винахід стосується виділеного людського антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента, що специфічно зв'язують і нейтралізують активність людського TNF-подібного ліганду 1A (hTL1A), що містять три гіперваріабельні ділянки важкого ланцюга та три гіперваріабельні ділянки легкого ланцюга (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 та LCDR3), що містяться у парі послідовностей варіабельної ділянки важкого ланцюга (HCVR)/варіабельної ділянки легкого ланцюга (LCVR), вибраній з групи, яка складається з послідовностей SEQ ID NO:2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/116, 118/126, 134/136, 138/146, 154/156, 158/166, 174/176, 178/186, 194/196, 198/206, 214/216, 218/226 та 234/236.

UA 110041 C2

Галузь техніки

Даний винахід стосується людських антитіл і антигензв'язуючих фрагментів людських антитіл, які специфічно зв'язують людський, подібний до TNF ліганд 1A (hTL1A), і терапевтичних способів використання таких антитіл.

5 Рівень техніки

TL1A – це білок клітинної мембрани типу II надродини факторів некрозу пухлини (TNFSF), що позначається також як TNFSF15. Він експресується на поверхні ендотеліальних клітин і активованих клітин гематопоетичної лінії, включаючи моноцити, макрофаги, лімфоцити, моноклеарні клітини власної пластинки слизової оболонки, дендритні клітини і плазматичні клітини (Tan, K.B. et al., 1997, Gene 204:35-46; Prehn, J.L. et al., 2007, J Immunol 178:4033-4038). Він експресується також в нирках, легенях, передміхуровій залозі і зобній залозі (Tan et al., 1997, supra). В ендотеліальних клітинах експресія TL1A регулюється на підвищення через IL-1 α і TNF α (Migone, T.S. et al., 2002, Immunity 16:479-492). В моноцитах свіжої крові людини і похідних від моноцитів дендритних клітинах експресія TL1A регулюється на підвищення опосередкованою Fc γ R або Toll-подібним рецептором (TLR) сигнальною системою (Prehn et al., 2007, supra; Meylan, F. et al., 2008, Immunity 29:79-89). TL1A може відщеплюватись від клітинної мембрани через механізм, аналогічний TNF α , і повідомлялось про розчинну ектодоменну форму TL1A (Migone et al., 2002, supra; Kim, S. et al., 2005, J Immunol Methods 298:1-8; Yang, C.R. et al., 2004, Cancer Res 64:1122-1129). Секвенування білка підтвердило, що ця форма TL1A вивільнюється після розщеплення прикріпленого до мембрани попередника між залишками Ala-71 і Leu-72 (Migone et al., 2002, supra). Були ідентифіковані дві варіантні кДНК, які потенційно кодують N-термінально усічені версії TL1A: VEGI-174 (або TL1) (Zhai, Y. et al., 1999, FASEB J 13:181-189) і VEGI-192 (Chew, L.J. et al., 2002, FASEB J 16:742-744). Опубліковані дані дозволяють припустити, що біологічно активні продукти гену TL1A являють собою трансмембранний білок типу II повної довжини (залишки 1-251) і його протеолітично розщеплений ектодомен (залишки 72-251) (Migone et al., 2002, supra; Jin et al., 2007, Biochem Biophys Res Commun 364:1-6). Варіант hTL1A, який позначається "Fhm", що містить заміщення однієї амінокислоти Gln-167 на Arg, є описаним в патенті США № 6,521,422.

TL1A опосередковує сигнали через свій когнатний рецептор Рецептор Смерті 3 (DR3; відомий також як TNFRSF25; послідовності нуклеїнових кислот і амінокислот SEQ ID №: 251 і 252, відповідно), що сприяє виживанню клітин і секреції прозапальних цитокінів або апоптозу, в залежності від контексту. TL1A є одним з трьох відомих лігандів (на додачу до FasL і LIGHT), що зв'язуються ендегенним розчинним рецептором уловлювачем DcR3 (відомим також як TR6, NTR3 або TNFRSF21; послідовності нуклеїнових кислот і амінокислот SEQ ID №: 253 і 254, відповідно)) (Migone et al., 2002, supra; Yang C.R. et al., 2004, Cancer Res 64:1122-1129).

DR3 – це зв'язаний з TNF рецептором рецептор домену смерті, який експресується на більшості активованих Т лімфоцитів і NK клітин (Migone et al., 2002, supra; Screaton G.R. et al., 1997, Proc Natl Acad Sci (США) 94:4615-4619). TL1A вступає у взаємодію з DR3 на Т клітинах, посилюючи їх реактивну здатність у відношенні IL-2 (Migone et al., 2002, supra), потенціюючи проліферацію Т клітин і вивільнення IFN γ і GM-CSF в умовах субоптимальної ко-стимуляції (Migone et al., 2002, supra; Meylan et al., 2008, supra). Було показано також, що TL1A вступає в синергізм з субоптимальними рівнями IL-12/IL-18, індукуючи продукцію IFN γ клітинами CD4⁺ Т (Papadakis, K.A. et al., 2004, J Immunol 172:7002-7007; Prehn, J.L. et al., 2004, Clin Immunol 112:66-77; Papadakis, K.A. et al., 2005, J Immunol 174:4985-4990; Cassatella, M.A. et al., 2007, J Immunol 178:7325-7333).

TL1A вважався задіяним в різних запальних захворюваннях та/або автоімунних захворюваннях, включаючи запальні хвороби кишечника [наприклад, виразковий коліт (UC) і хворобу Крона (CD)], ревматоїдний артрит, розсіяний склероз (MS), атеросклероз, і т.п. (дивись Bayry, J., 2010, Nature Reviews/Rheumatology 6:67-68; Takedatsu, H. et al., 2008, Gastroenterology 135:552-567; Prehn et al., 2004, supra; Bamias, G. et al., 2008, Clin Immunol 129:249-255; Bull, M.J. et al., 2008, J Exp Med 205:2457-2464; Pappu, B.P. et al., 2008, J Exp Med 205:1049-1062; Bamias, G. et al., 2003, J Immunol 171:4868-4874; Kang, Y. et al., 2005, Cytokine 29:229-235). Хоча більшість опублікованих даних сходяться на центральній ролі TL1A в запуску диференціації ефекторної функції T_H1 і T_H17, в одному дослідженні останнього часу для взаємодії TL1A/DR3 було запропоновано роль в розвитку реакцій T_H2 Т клітин в моделях астми (Fang, L. et al., 2008, J Exp Med 205:1037-1048). Так, застосування інгібіторів TL1A, таких як повністю людські антитіла проти TL1A, з високою афінністю і нейтралізуючою активністю, окремо або в комбінації з наявними тепер протизапальними агентами, імуносупресантами (наприклад, антагоністами TNF- α , кортизоном або стероїдами і т.п.), та/або протиалергічними агентами, забезпечує ефективне лікування таких захворювань і розладів.

Послідовності нуклеїнових кислот і амінокислот людського TL1A є показаними в SEQ ID №№: 243 і 244, відповідно, а послідовності Fhm є показаними в SEQ ID №№: 245 і 246, відповідно. Антитіла до TL1A є описаними, наприклад, в патентах США №№ 7,597,886 і 7,820,798 та в патентній заявці США № 2009/0280116.

5 Суть винаходу

У відповідності до першого аспекту, даний винахід пропонує повністю людські моноклональні антитіла (mAbs) та їх антигензв'язуючі фрагменти, які специфічно зв'язують і нейтралізують активність людського TL1A (hTL1A).

10 Такі антитіла можуть бути повної довжини (наприклад, IgG1 або IgG4 антитіло) або можуть містити тільки антигензв'язуючу частину (наприклад, Fab, F(ab')₂ або scFv фрагмент), і можуть бути модифікованими з метою зміни функціональності, наприклад щоб усунути залишкові ефекторні функції (Reddy et al., 2000, J. Immunol. 164:1925-1933).

15 В одному варіанті здійснення даний винахід заявляє антитіло або антигензв'язуючий фрагмент антитіла, які містять варіабельну ділянку важкого ланцюга (HCVR), вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 118, 134, 138, 154, 158, 174, 178, 194, 198, 214, 218 і 234, або мають суттєво подібну послідовність, що характеризується щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% ідентичністю послідовностей. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент містять HCVR, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 2, 18, 34, 50, 66, 134, 174 і 234. В ще іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент містять HCVR, що має послідовність SEQ ID №№: 2, 18, 174 або 234.

25 В одному варіанті здійснення антитіло або його фрагмент додатково містять варіабельну ділянку легкого ланцюга (LCVR), вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206, 216, 226 і 236, або мають суттєво подібну послідовність, що характеризується щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% ідентичністю послідовностей. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент містять LCVR, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 10, 26, 42, 58, 74, 136, 176 і 236. В ще іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент містять LCVR, що має амінокислотну послідовність SEQ ID №№: 10, 26, 176 або 236.

30 В подальших варіантах здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент містять пару послідовностей HCVR і LCVR (HCVR/LCVR), вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/116, 118/126, 134/136, 138/146, 154/156, 158/166, 174/176, 178/186, 194/196, 198/206, 214/216, 218/226 і 234/236. В одному варіанті здійснення антитіло або його фрагмент містять HCVR і LCVR, вибрані з пар амінокислотних послідовностей SEQ ID №№: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 134/136, 174/176 і 234/236. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент містять пару HCVR/LCVR з послідовностями SEQ ID №№: 2/10, 18/26, 174/176 і 234/236.

45 У відповідності до другого аспекту, даний винахід пропонує антитіло або антигензв'язуючий фрагмент антитіла, які містять амінокислотну послідовність визначаючої комплементарності ділянки 3 важкого ланцюга (HCDR3), вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 124, 144, 164, 184, 204 і 224, або суттєво подібну до неї послідовність, що характеризується щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% ідентичністю послідовностей; і амінокислотну послідовність CDR3 (LCDR3) легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 132, 152, 172, 192, 212 і 232, або суттєво подібну до неї послідовність, що характеризується щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% ідентичністю послідовностей. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент містять пару амінокислотних послідовностей HCDR3/LCDR3, вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 8/16, 24/32, 40/48, 56/64, 72/80, 88/96, 104/112, 124/132, 144/152, 164/172, 184/192, 204/212 або 224/232. В іншому варіанті здійснення антитіло або його фрагмент містять пару амінокислотних послідовностей HCDR3/LCDR3, що являє собою SEQ ID №№: 8/16, 24/32, 164/172 або 224/232.

55 В подальшому варіанті здійснення даний винахід пропонує антитіло або його фрагмент, які додатково містять амінокислотну послідовність CDR1 (HCDR1) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 120, 140, 160, 180, 200 і 220, або суттєво подібну до неї послідовність, що характеризується щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% ідентичністю послідовностей;

амінокислотну послідовність CDR2 (HCDR2) важкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 122, 142, 162, 182, 202 і 222, або суттєво подібну до неї послідовність, що характеризується щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% ідентичністю послідовностей; та/або

5 амінокислотну послідовність CDR1 (LCDR1) легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 128, 148, 168, 188, 208 і 228, або суттєво подібну до неї послідовність, що характеризується щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% ідентичністю послідовностей; та/або амінокислотну послідовність CDR2 (LCDR2) легкого ланцюга, вибрану з групи, що складається з

10 послідовностей SEQ ID №№: 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 130, 150, 170, 190, 210 і 230, або суттєво подібну до неї послідовність, що характеризується щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% ідентичністю послідовностей. В одному варіанті здійснення антитіло або його фрагмент містять комбінацію HCDR1/HCDR2/HCDR3, вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 4/6/8, 20/22/24, 36/38/40, 52/54/56, 68/70/72, 84/86/88, 100/102/104, 120/122/124, 140/142/144, 160/162/164, 180/182/184, 200/202/204 і 220/222/224; та/або комбінацію LCDR1/LCDR2/LCDR3, вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 12/14/16, 28/30/32, 44/46/48, 60/62/64, 76/78/80, 92/94/96, 108/110/112, 128/130/132, 148/150/152, 168/170/172, 188/190/192, 208/210/212 і 228/230/232. В іншому варіанті здійснення амінокислотні послідовності CDR важкого і легкого ланцюгів являють собою комбінацію послідовностей CDR, вибрану з групи, що складається з послідовностей SEQ ID №№: 4/6/8/12/14/16, 20/22/24/28/30/32, 36/38/40/44/46/48, 52/54/56/60/62/64, 68/70/72/76/78/80, 84/86/88/92/94/96, 100/102/104/108/110/112, 120/122/124/128/130/132, 140/142/144/148/150/152, 160/162/164/168/170/172, 180/182/184/188/190/192, 200/202/204/208/210/212 і 220/222/224/228/230/232. В іншому варіанті здійснення антитіло або його фрагмент, що несе

20 антиген, послідовності CDR важкого і легкого ланцюгів SEQ ID №№: 4/6/8/12/14/16, 20/22/24/28/30/32, 36/38/40/44/46/48, 52/54/56/60/62/64, 68/70/72/76/78/80, 120/122/124/128/130/132, 160/162/164/168/170/172 або 220/222/224/228/230/232. В ще іншому варіанті здійснення амінокислотні послідовності CDR важкого і легкого ланцюгів являють собою комбінацію послідовностей CDR SEQ ID №№: 4/6/8/12/14/16, 20/22/24/28/30/32, 160/162/164/168/170/172 або 220/222/224/228/230/232.

В спорідненому варіанті здійснення даний винахід пропонує антитіло або антигензв'язуючий фрагмент антитіла, які специфічно зв'язують hTL1A, де це антитіло або його фрагмент являють собою домени CDR важкого і легкого ланцюгів, що містяться в парах послідовностей важкого і легкого ланцюгів, вибраних з групи, яка складається з SEQ ID №№: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/116, 118/126, 134/136, 138/146, 154/156, 158/166, 174/176, 178/186, 194/196, 198/206, 214/216, 218/226 і 234/236. Способи і методики для ідентифікації ділянок CDR в амінокислотних послідовностях HCVR і LCVR є відомими в цій галузі і можуть бути застосовані для ідентифікації CDR в тих амінокислотних послідовностях HCVR та/або LCVR, які є описаними тут. Звичайні дефініції, що можуть бути використані для ідентифікації меж ділянок CDR, включають дефініцію Kabat, дефініцію Chothia і дефініцію AbM. Загалом, дефініція Kabat базується на варіабельності послідовностей, дефініція Chothia базується на локалізації структурних петельних ділянок, а дефініція AbM є компромісом між підходами Kabat і Chothia. Дивись, наприклад, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani et al., J. Mol. Biol. 273:927-948 (1997); та Martin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272 (1989). Наявними є також доступні бази даних для ідентифікації послідовностей CDR в антитілі. В одному варіанті здійснення таке антитіло або його фрагмент являють собою послідовності CDR, що містяться в парі HCVR і LCVR, вибраній з групи, яка складається з пар амінокислотних послідовностей SEQ ID №№: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 134/136, 174/176 і 234/236. В іншому варіанті здійснення таке антитіло або його

40 фрагмент являють собою послідовності CDR, що містяться в парі послідовностей HCVR і LCVR SEQ ID №№: 2/10, 18/26, 174/176 або 234/236.

В іншому спорідненому варіанті здійснення даний винахід пропонує антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, які конкурують за специфічне зв'язування з hTL1A, при цьому антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент являють собою послідовності CDR важкого і легкого ланцюгів SEQ ID №№: 4/6/8/12/14/16, 20/22/24/28/30/32, 36/38/40/44/46/48, 52/54/56/60/62/64, 68/70/72/76/78/80, 120/122/124/128/130/132, 160/162/164/168/170/172 або 220/222/224/228/230/232. В одному варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент конкурують за специфічне зв'язування з hTL1A з антитілом або антигензв'язуючим фрагментом, що являють собою послідовності CDR важкого і легкого ланцюгів SEQ ID №№: 4/6/8/12/14/16, 20/22/24/28/30/32, 160/162/164/168/170/172 або 220/222/224/228/230/232. В

іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент за цим винаходом конкурують за специфічне зв'язування з hTL1A з антитілом або антигензв'язуючим фрагментом, що являють собою пару послідовностей HCVR/LCVR SEQ ID №№: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 134/136, 174/176 або 234/236. В ще іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент конкурують за специфічне зв'язування з hTL1A з антитілом або антигензв'язуючим фрагментом, що являють собою пару послідовностей HCVR/LCVR SEQ ID №№: 2/10, 18/26, 174/176 або 234/236.

В іншому спорідненому варіанті здійснення даний винахід пропонує антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, які зв'язують той самий епітоп на hTL1A, що розпізнається антитілом або його фрагментом, які являють собою послідовності CDR важкого і легкого ланцюгів SEQ ID №№: 4/6/8/12/14/16, 20/22/24/28/30/32, 36/38/40/44/46/48, 52/54/56/60/62/64, 68/70/72/76/78/80, 120/122/124/128/130/132, 160/162/164/168/170/172 або 220/222/224/228/230/232. В одному варіанті здійснення таке антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент зв'язують той самий епітоп на hTL1A, що розпізнається антитілом або його фрагментом, які являють собою послідовності CDR важкого і легкого ланцюгів SEQ ID №№: 4/6/8/12/14/16, 20/22/24/28/30/32, 160/162/164/168/170/172 або 220/222/224/228/230/232. В іншому варіанті здійснення антитіло або антигензв'язуючий фрагмент за цим винаходом розпізнають той самий епітоп на hTL1A, що розпізнається антитілом або його антигензв'язуючим фрагментом, які являють собою пару послідовностей HCVR/LCVR SEQ ID №№: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 134/136, 174/176 або 234/236. В ще іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент розпізнають той самий епітоп на hTL1A, що розпізнається антитілом або його антигензв'язуючим фрагментом, які являють собою пару послідовностей HCVR/LCVR SEQ ID №№: 2/10, 18/26, 174/176 або 234/236.

У відповідності до третього аспекту, даний винахід пропонує молекули нуклеїнової кислоти, кодуєчі описані вище анти-TL1A антитіла або їх фрагменти. Реконбінантні вектори експресії, що несуть нуклеїнові кислоти за цим винаходом, і виділені клітини-хазяї, наприклад бактеріальні клітини, такі як E. coli, або клітини ссавців, такі як клітини CHO, в які такі вектори були введені, також охоплюються цим винаходом, як і способи отримання антитіл шляхом культивування клітин-хазяїв в умовах, що забезпечують продукцію таких антитіл, а також способи виділення отриманих антитіл.

В одному варіанті здійснення даний винахід пропонує антитіло або його фрагмент, що являють собою HCVR, кодовану послідовністю нуклеїнових кислот, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 117, 133, 137, 153, 157, 173, 177, 193, 197, 213, 217 і 233, або суттєво ідентичною послідовністю, що має щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% гомологію з нею. В іншому варіанті здійснення антитіло або його фрагмент являють собою HCVR, кодовану послідовністю нуклеїнових кислот, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 1, 17, 33, 49, 65, 133, 173 і 233. В ще іншому варіанті здійснення антитіло або його фрагмент являють собою HCVR, кодовану послідовністю нуклеїнових кислот з SEQ ID №№: 1, 17, 173 або 233.

В одному варіанті здійснення антитіло або його фрагмент додатково містять LCVR, кодовану послідовністю нуклеїнових кислот, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 115, 125, 135, 145, 155, 165, 175, 185, 195, 205, 215, 225 і 235, або суттєво ідентичною послідовністю, що має щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% гомологію з нею. В іншому варіанті здійснення антитіло або його фрагмент містять LCVR, кодовану послідовністю нуклеїнових кислот, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 9, 25, 41, 57, 73, 135, 175 і 235. В ще іншому варіанті здійснення антитіло або його фрагмент містять LCVR, кодовану послідовністю нуклеїнових кислот SEQ ID №№: 9, 25, 175 або 235.

В подальших варіантах здійснення антитіло або його фрагмент містять пару послідовностей HCVR і LCVR (HCVR/LCVR), кодовану парою послідовностей нуклеїнових кислот, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 1/9, 17/25, 33/41, 49/57, 65/73, 81/89, 97/105, 113/115, 117/125, 133/135, 137/145, 153/155, 157/165, 173/175, 177/185, 193/195, 197/205, 213/215, 217/225 і 233/235. В одному варіанті здійснення антитіло або його фрагмент містять пару послідовностей HCVR/LCVR, кодовану парою послідовностей нуклеїнових кислот, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 1/9, 17/25, 33/41, 49/57, 65/73, 133/135, 173/175 і 233/235. В ще іншому варіанті здійснення антитіло або його фрагмент містять пару послідовностей HCVR/LCVR, кодовану парою послідовностей нуклеїнових кислот SEQ ID №№: 1/9, 17/25, 173/175 або 233/235.

В одному варіанті здійснення даний винахід пропонує антитіло або антигензв'язуючий фрагмент антитіла, що містить домен HCDR3, кодований нуклеотидною послідовністю,

вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 7, 23, 39, 55, 71, 87, 103, 123, 143, 163, 183, 203 і 223, або суттєво ідентичною послідовністю, що має щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% гомологію з нею, і домен LCDR3, кодований нуклеотидною послідовністю, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 15, 31, 47, 63, 79, 95, 111, 131, 151, 171, 191, 211 і 231, або суттєво ідентичною послідовністю, що має щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% гомологію з нею. В іншому варіанті здійснення таке антитіло або його фрагмент містять пару послідовностей HCDR3 і LCDR3, кодованих парою послідовностей нуклеїнових кислот SEQ ID №№: 7/15, 23/31, 39/47, 55/63, 71/79, 123/131, 163/171 або 223/231. В ще іншому варіанті здійснення пара послідовностей HCDR3/LCDR3 кодується парою послідовностей нуклеїнових кислот SEQ ID №№: 7/15, 23/31, 163/171 або 223/231.

В подальших варіантах здійснення антитіло або його фрагмент додатково містять домен HCDR1, кодований нуклеотидною послідовністю, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 3, 19, 35, 51, 67, 83, 99, 119, 139, 159, 179, 199 і 219, або суттєво ідентичною послідовністю, що має щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% гомологію з нею; домен HCDR2, кодований нуклеотидною послідовністю, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 5, 21, 37, 53, 69, 85, 101, 121, 141, 161, 181, 201 і 221, або суттєво ідентичною послідовністю, що має щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% гомологію з нею; домен LCDR1, кодований нуклеотидною послідовністю, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 127, 147, 167, 187, 207 і 227, або суттєво ідентичною послідовністю, що має щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% гомологію з нею; і домен LCDR2, кодований нуклеотидною послідовністю, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 13, 29, 45, 61, 77, 93, 109, 129, 149, 169, 189, 209 і 229, або суттєво ідентичною послідовністю, що має щонайменше 90%, щонайменше 95%, щонайменше 98% або щонайменше 99% гомологію з нею. В одному варіанті здійснення антитіло або його фрагмент містять комбінацію HCDR1/HCDR2/HCDR3, кодовану SEQ ID №№: 3/5/7, 19/21/23, 35/37/39, 51/53/55, 67/69/71, 83/85/87, 99/101/103, 119/121/123, 139/141/143, 159/161/163, 179/181/183, 199/201/203 або 219/221/223; і комбінацію LCDR1/LCDR2/LCDR3, кодовану SEQ ID №№: 11/13/15, 27/29/31, 43/45/47, 59/61/63, 75/77/79, 91/93/95, 107/109/111, 127/129/131, 147/149/151, 167/169/171, 187/189/191, 207/209/211 або 227/229/231. В одному варіанті здійснення антитіло або його фрагмент містять послідовності CDR важкого і легкого ланцюгів, кодовані комбінацією послідовностей нуклеїнових кислот, вибраною з групи, яка складається з SEQ ID №№: 3/5/7/11/13/15, 19/21/23/27/29/31, 35/37/39/43/45/47, 51/53/55/59/61/63, 67/69/71/75/77/79, 83/85/87/91/93/95, 99/101/103/107/109/111, 119/121/123/127/129/131, 139/141/143/147/149/151, 159/161/163/167/169/171, 179/181/183/187/189/191, 199/201/203/207/209/211 і 219/221/223/227/229/231. В іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуюча частина містять послідовності CDR важкого і легкого ланцюгів, кодовані комбінацією послідовностей нуклеїнових кислот SEQ ID №№: 3/5/7/11/13/15, 19/21/23/27/29/31, 35/37/39/43/45/47, 51/53/55/59/61/63, 67/69/71/75/77/79, 119/121/123/127/129/131, 159/161/163/167/169/171 або 219/221/223/227/229/231. В ще іншому варіанті здійснення антитіло або його антигензв'язуюча частина містять послідовності CDR важкого і легкого ланцюгів, кодовані комбінацією послідовностей нуклеїнових кислот SEQ ID №№: 3/5/7/11/13/15, 19/21/23/27/29/31, 159/161/163/167/169/171 або 219/221/223/227/229/231.

У відповідності до четвертого аспекту, даний винахід пропонує виділене антитіло або антигензв'язуючий фрагмент антитіла, що специфічно зв'язують hTL1A, які містять HCDR3 і LCDR3, де HCDR3 являє собою амінокислотну послідовність формули $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 - X^9 - X^{10} - X^{11} - X^{12} - X^{13} - X^{14} - X^{15} - X^{16}$ (SEQ ID №: 239), де X^1 є Thr або Ala, X^2 є Lys, Arg або відсутній, X^3 є Glu, Gly або відсутній, X^4 є Asp, Pro або відсутній, X^5 є Leu або відсутній, X^6 є Arg, Tyr, Glu або відсутній, X^7 є Gly, Asp, Ala або відсутній, X^8 є Asp, Ser або Tyr, X^9 є Tyr або Trp, X^{10} є Tyr або Asp, X^{11} є Tyr, Lys або Ile, X^{12} є Gly, Tyr, Asn або Ser, X^{13} є Val, Gly або Ser, X^{14} є Phe або Met, X^{15} є Asp, і X^{16} є Tyr або Val; а LCDR3 являє собою амінокислотну послідовність формули $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 - X^9$ (SEQ ID №: 242), де X^1 є Gln, X^2 є Gln, X^3 є Tyr, Leu або Phe, X^4 є His, Tyr або Asn, X^5 є Arg або Ser, X^6 є Ser, Thr або Tyr, X^7 є Trp або Pro, X^8 є Phe, Leu або відсутній, і X^9 є Thr.

В подальшому варіанті здійснення таке антитіло або його фрагмент додатково містять послідовність HCDR1, що являє собою амінокислотну послідовність формули $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8$ (SEQ ID №: 237), де X^1 є Gly, X^2 є Phe, X^3 є Thr, X^4 є Phe, X^5 є Ser, X^6 є Thr, Ser або Asn, X^7 є Tyr, і X^8 є Gly, Trp, Val або Ala; послідовність HCDR2 являє собою амінокислотну послідовність формули $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8$ (SEQ ID №: 238), де X^1 є Ile або Val, X^2 є

Ser або Lys, X^3 є Gly або Glu, X^4 є Thr, Asp, Ser або Arg, X^5 є Gly, X^6 є Arg, Ser або Gly, X^7 є Thr, Glu або Ser, і X^8 є Thr або Lys; послідовність LCDR1 являє собою амінокислотну послідовність формули $X^1 - X^2 - X^3 - X^4 - X^5 - X^6 - X^7 - X^8 - X^9 - X^{10} - X^{11} - X^{12}$ (SEQ ID №: 240), де X^1 є Gln, X^2 є Thr, Ser, Ala або Gly, X^3 є Ile, X^4 є Ser або Leu, X^5 є Tyr або відсутній, X^6 є Ser або відсутній, X^7 є Ser або відсутній, X^8 є Asn або відсутній, X^9 є Asn або відсутній, X^{10} є Lys або відсутній, X^{11} є Ser, Asn або Thr, і X^{12} є Trp або Tyr; і послідовність LCDR2 являє собою амінокислотну послідовність формули $X^1 - X^2 - X^3$ (SEQ ID №: 241), де X^1 є Ala, Trp або Ser, X^2 є Ala або Thr, і X^3 є Ser.

У відповідності до п'ятого аспекту, даний винахід пропонує людське анти-TL1A антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, які містять варіабельну ділянку важкого ланцюга (HCVR), кодовану сегментами нуклеотидної послідовності, похідними від зародкових послідовностей V_H , D_H і J_H , варіабельну ділянку легкого ланцюга (LCVR), кодовану сегментами нуклеотидної послідовності, похідними від зародкових послідовностей V_K і J_K . В певних варіантах здійснення таке антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент містять ділянки HCVR і LCVR, кодовані сегментами нуклеотидної послідовності, похідними від комбінації зародкових генів, вибраних з групи, яка складається з: (i) V_H3-23 , D_H2-21 , J_H4 , V_K1-5 і J_K1 ; (ii) V_H3-7 , D_H1-7 , J_H6 , V_K4-1 і J_K3 ; (iii) V_H3-23 , D_H2-2 , J_H6 , V_K1-9 і J_K2 ; (iv) V_H3-23 , D_H6-6 , J_H4 , V_K1-9 і J_K4 ; (v) V_H1-2 , D_H2-15 , J_H3 , V_K1-12 і J_K4 ; (vi) V_H4-34 , D_H3-9 , J_H4 , V_K3-20 і J_K4 ; (vii) V_H4-34 , D_H1-1 , J_H4 , V_K3-20 і J_K4 ; та (viii) V_H4-34 , D_H3-3 , J_H4 , V_K2-24 і J_K4 .

У відповідності до шостого аспекту, даний винахід пропонує антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, що специфічно зв'язуються з hTL1A або Fhm з рівноважною константою дисоціації (K_D) близько 1 нМ або менше, як визначається за допомогою поверхневого плазмонного резонансного аналізу (наприклад, BIACORE™). В певних варіантах здійснення антитіло за цим винаходом демонструє K_D близько 800 пМ або менше; близько 700 пМ або менше; близько 600 пМ або менше; близько 500 пМ або менше; близько 400 пМ або менше; близько 300 пМ або менше; близько 200 пМ або менше; близько 150 пМ або менше; близько 100 пМ або менше; близько 90 пМ або менше; близько 80 пМ або менше; близько 50 пМ або менше; або 30 пМ або менше.

У відповідності до сьомого аспекту, даний винахід пропонує анти-hTL1A антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, які зв'язують білок hTL1A послідовності SEQ ID №: 244, але перехресно не реагують з його варіантом, таким як Fhm послідовності SEQ ID №: 246, як було визначено, наприклад, за допомогою ELISA, поверхневого плазмонного резонансного аналізу або технології Luminex® xMAP® Technology, як тут описано. Fhm містить єдине амінокислотне заміщення в позиції 167, що відповідає Gln в hTL1A, на Arg (дивись патент США № 6,521,422). В споріднених варіантах здійснення даний винахід пропонує також анти-hTL1A антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, які зв'язують білок hTL1A і перехресно реагують з Fhm. В іншому спорідненому варіанті здійснення даний винахід пропонує анти-hTL1A антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, які перехресно не реагують з мишачим TL1A (mTL1A: SEQ ID №: 250, кодований нуклеотидною послідовністю SEQ ID №: 249), але перехресно реагують з TL1A яванського макаки (Macaca fascicularis, або MfTL1A: SEQ ID №: 248, кодований нуклеотидною послідовністю SEQ ID №: 247) або макаки-резус (Macaca mulatta: така сама амінокислотна послідовність, як у MfTL1A). В подальших споріднених варіантах здійснення даний винахід пропонує анти-hTL1A антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, які перехресно реагують як з mTL1A, так і з MfTL1A.

Даний винахід охоплює анти-hTL1A антитіла, що мають модифікований профіль глікозилювання. В певних застосуваннях може бути доцільною модифікація, спрямована на видалення небажаних сайтів глікозилювання або, наприклад, на видалення функціональної групи фукози для посилення функції залежної від антитіла клітинно-опосередкованої цитотоксичності (ADCC) (дивись Shield et al. (2002) JBC 277:26733). В інших застосуваннях видалення сайту N-глікозилювання може зменшити небажані імунні реакції проти терапевтичних антитіл або підвищити афінність таких антитіл. В ще інших застосуваннях може здійснюватись модифікація галактозилювання з метою змінити залежну від комплексу цитотоксичність (CDC).

У відповідності до восьмого аспекту, даний винахід пропонує фармацевтичну композицію, що містить рекомбінантне людське антитіло або його фрагмент, які специфічно зв'язують hTL1A, і фармацевтично прийнятний носій. В одному варіанті здійснення даний винахід пропонує композицію, що є комбінацією антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента за цим винаходом і другого терапевтичного агента. Таким другим терапевтичним агентом може бути один або більше з будь-яких агентів, таких як імуносупресанти, протизапальні агенти, анальгетики, протиалергійні агенти і т.п., терапевтичні ефекти багатьох з яких накладаються один на інший. Імуносупресанти, придатні для використання в комбінації з анти-hTL1A

антитілами за цим винаходом, включають, не обмежуючись ними, глюкокортикоїди, циклоспорин, метотрексат, інтерферон β (IFN- β), такролімус, сіролімус, азатіоприн, меркаптопурин, опіоїди, мікофенолат, TNF-зв'язуючі білки, такі як інфліксимаб, етернацепт, адалімумаб і т.п., цитотоксичні антибіотики, такі як дактиномицин, антрацикліни, мітоміцин С, блеоміцин, мітраміцин і т.п., націлені на імунні клітини антитіла, такі як анти-CD20 антитіла, анти-CD3 антитіла і т.п. Протизапальні агенти та/або анальгетики, придатні для комбінаційної терапії з анти-hTL1A антитілами за цим винаходом, включають кортикостероїди, не стероїдні протизапальні препарати (НСПЗП), такі як аспірин, ібупрофен, напроксен, інгібітори Cox-2 і т.п., антагоністи TNF- α , антагоністи IL-1, антагоністи IL-6, ацетамінофен, морфіноміметики і т.п.

Придатні антиалергійні агенти включають антигістаміни, глюкокортикоїди, епінефрин (адреналін), теофілін, натрієва сіль кромоліну і анти-лейкотрієни, а також анти-холінергічні агенти, протизастійні агенти, стабілізатори тучних клітин і т.п.

У відповідності до дев'ятого аспекту, даний винахід пропонує способи пригнічення активності hTL1A за допомогою анти-hTL1A антитіла або антигензв'язуючої частини антитіла за цим винаходом, де терапевтичні способи передбачають введення терапевтично ефективної кількості фармацевтичної композиції, що містить антитіло або антигензв'язуючий фрагмент антитіла за цим винаходом і необов'язково один або більше додаткових терапевтичних агентів, описаних вище. Хворобою або розладом, що лікуються, може бути будь-яка хвороба або стан, які поліпшуються, покращуються, пригнічуються або попереджаються або частота яких зменшується порівняно з ситуацією без лікування анти-hTL1A антитілом, за рахунок усунення, пригнічення або зниження активності TL1A. Приклади захворювань або розладів, що лікуються способами за цим винаходом, включають, не обмежуючись ними, запальні хвороби та/або автоімунні хвороби, такі як запальні хвороби кишечника (ЗХК), включаючи виразковий коліт (ВК) і хворобу Крона (ХК), ревматоїдний артрит (РА), розсіяний склероз (РС), діабет типу 1 і типу 2, псоріаз, псоріатичний артрит, анкілозуючий спондиліт, atopічний дерматит і т.п.; алергічні реакції або стани, включаючи астму, алергічне запалення легень і т.п.; різні види раку, атеросклероз, інфекції, нейродегенеративні захворювання, відторгнення трансплантату, реакція трансплантату проти хазяїна (РТПХ), серцево-судинні розлади/хвороби і т.п.

Інші варіанти здійснення стануть очевидними після ознайомлення з наступним докладним описом.

Докладний опис винаходу

Перед тим, як описувати даний винахід докладно, слід зазначити, що він не обмежується конкретними способами і експериментальними умовами, оскільки такі способи і умови можуть змінюватись. Також має бути зрозумілим, що використовувана тут термінологія призначена тільки для цілей опису конкретних варіантів здійснення і не є обмежуючою, оскільки об'єм даного винаходу буде визначатись тільки формулою винаходу, що додається.

Якщо вони не визначаються по-іншому, всі використовувані тут технічні і наукові терміни мають те саме значення, що є зрозумілим для звичайного спеціаліста в галузі, до якої належить цей винахід. Хоча будь-які методи і матеріали, подібні або еквівалентні до описаних тут, можуть бути застосовані при реалізації або випробуванні даного винаходу, перевагу слід віддавати методам і матеріалам, описаним тут. Всі публікації, згадані тут, є включеними сюди за посиланням у всій їх повноті.

Дефініції

Термін "людський TNF-подібний ліганд 1A" або "hTL1A", як він тут використовується, стосується hTL1A, що має послідовність нуклеїнових кислот, показану в SEQ ID №: 243, і амінокислотну послідовність SEQ ID №: 244, або його біологічно активного фрагмента, а також варіантів hTL1A, включаючи Fhm, що має послідовність нуклеїнових кислот, показану в SEQ ID №: 245, і амінокислотну послідовність SEQ ID №: 246, або його біологічно активний фрагмент, коли конкретно не вказується інше.

Термін "антитіло", як він тут використовується, стосується молекул імуноглобуліну, що складаються з чотирьох поліпептидних ланцюгів – двох важких (H) ланцюгів і двох легких (L) ланцюгів, взаємопов'язаних дисульфідними зв'язками. Кожний важкий ланцюг має варіабельну ділянку важкого ланцюга (HCVR) і постійну ділянку важкого ланцюга (C_H; складену з доменів C_H1, C_H2 і C_H3). Кожний легкий ланцюг має варіабельну ділянку легкого ланцюга (LCVR) і постійну ділянку важкого ланцюга (C_L). HCVR і LCVR можуть далі підрозділятися на ділянки гіперваріабельності, які називають ділянками, що визначають комплементарність (CDR), в проміжках між якими знаходяться ділянки, що є більш збереженими, які називають каркасними ділянками (FR). Кожна HCVR і LCVR складається з трьох CDR і чотирьох FR, розміщених в наступному порядку від аміно-кінця і карбокси-кінця: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 і FR4.

Заміщення одного або більше CDR залишків або пропуск однієї або більше CDR також є можливим. В науковій літературі описані антитіла, в яких одна або дві CDR можуть бути вільними для зв'язування. Padlan et al. (1995 FASEB J. 9:133-139) проаналізували контактні ділянки між антитілами та їх антигенами на основі опублікованих кристалічних структур і дійшли висновку, що тільки від однієї п'ятої до однієї третьої частини залишків CDR дійсно контактують з антигеном. Padlan також виявив багато антитіл, в яких одна або дві ділянки CDR не мали амінокислот в контакті з антигеном (дивись також, Vajdos et al. 2002 J Mol Biol 320:415-428).

Залишки CDR, що не контактують з антигеном, можуть бути ідентифіковані на основі попередніх досліджень (наприклад, залишки H60-H65 в CDRH2 часто не є необхідними), з ділянок CDR Kabat, що лежать поза CDR Chothia, за допомогою молекулярного моделювання та/або емпірично. Коли CDR або її залишок (залишки) пропускаються, вони звичайно заміщуються амінокислотою, що займає відповідну позицію в іншій послідовності людського антитіла або консенсусі таких послідовностей. Позиції для заміщення в межах CDR і амінокислоти для заміщення можуть також вибиратись емпірично. Емпіричні заміщення можуть бути консервативними або неконсервативними заміщеннями.

Термін "людське антитіло", як він тут використовується, включає антитіла, що мають варіабельні і постійні ділянки, похідні від зародкових імуноглобулінових послідовностей людини. Людські mAb за цим винаходом можуть містити амінокислотні залишки, не кодовані зародковими імуноглобуліновими послідовностями людини (наприклад, мутації, введені шляхом випадкового або специфічного до сайту мутагенезу *in vitro* або соматичною мутацією *in vivo*), наприклад в CDR і в конкретному CDR3. Однак термін "людське антитіло", як він тут використовується, не включає mAb, в яких послідовності CDR, похідні від зародкової лінії іншого виду ссавців (наприклад, миші), були пересажені на послідовності людського FR.

Повністю людські анти-TL1A антитіла, описані тут, можуть містити одне або більше амінокислотних заміщень, вставок та/або делецій в каркасних та/або CDR ділянках варіабельних доменів важкого і легкого ланцюгів порівняно з відповідними зародковими послідовностями. Такі мутації можуть легко виявлятися шляхом порівняння описаних тут амінокислотних послідовностей з зародковими послідовностями, які можна отримати з доступних баз даних щодо послідовностей антитіла. Даний винахід містить антитіла та їх антигензв'язуючі фрагменти, що є похідними від будь-якої з описаних тут амінокислотних послідовностей, в яких одна або більше амінокислот в межах однієї або більше каркасної та/або CDR ділянок піддані мутації до відповідного залишку (залишків) зародкової послідовності, від якої походить це антитіло, або до відповідного залишку (залишків) іншої людської зародкової послідовності, або до консервативного амінокислотного заміщення відповідного зародкового залишку (залишків) (такі зміни послідовності тут сукупно називаються "зародковими мутаціями"). Спеціаліст в цій галузі, виходячи з описаних тут послідовностей варіабельних ділянок важкого і легкого ланцюгів, може легко отримати численні антитіла і антигензв'язуючі фрагменти, які містять одну або більше індивідуальних зародкових зворотних мутацій або їх комбінацій. В певних варіантах здійснення всі каркасні та/або CDR залишки в межах доменів V_H та/або V_L є мutowаними зворотно до залишків тієї початкової зародкової послідовності, від якої походить дане антитіло. В інших варіантах здійснення тільки певні залишки є мutowаними зворотно до початкової зародкової послідовності, наприклад тільки мutowані залишки, що знаходяться в межах перших 8 амінокислот FR1 або в межах останніх 8 амінокислот FR4, або тільки мutowані залишки, що знаходяться в межах CDR1, CDR2 або CDR3. В інших варіантах здійснення один або більше каркасних та/або CDR залишків є мutowаними до відповідних залишків іншої зародкової послідовності (тобто, зародкової послідовності, що відрізняється від тієї зародкової послідовності, з якої початково було отримане дане антитіло). Більше того, антитіла за даним винаходом можуть містити будь-яку комбінацію двох або більше зародкових мутацій в межах каркасних та/або CDR ділянок, наприклад коли певні індивідуальні залишки є мutowаними до відповідних залишків конкретної зародкової послідовності, тоді як певні інші залишки, які відрізняються від початкової зародкової послідовності, є збереженими або мutowаними до відповідного залишку іншої зародкової послідовності. Після отримання антитіла і антигензв'язуючі фрагменти, що містять одну або більше зародкових мутацій, можуть бути легко випробувані щодо однієї або більше бажаних властивостей, таких як поліпшена специфічність зв'язування, підвищена афінність до зв'язування, поліпшені або посилені антагоністичні або агоністичні біологічні властивості (в залежності від ситуації), знижена імуногенність і т.п. Антитіла і антигензв'язуючі фрагменти, одержані у такий загальний спосіб, охоплюються даним винаходом.

Даний винахід включає також анти-TL1A антитіла, що містять варіанти будь-якої з HCVR, LCVR та/або CDR амінокислотних послідовностей, описаних тут, що мають одне або більше

консервативних заміщень. Наприклад, даний винахід включає анти-TL1A антитіла, що мають HCVR, LCVR та/або CDR амінокислотні послідовності з, наприклад, 10 або менше, 8 або менше, 6 або менше, 4 або менше, 2 або 1 консервативним амінокислотним заміщенням відносно будь-якої з описаних тут HCVR, LCVR та/або CDR амінокислотних послідовностей.

Коли конкретно не вказується інше, термін "антитіло" (Ab), як він тут використовується, має розумітись як такий, що охоплює молекули антитіла, що містять два імуноглобулінові важкі ланцюги і два імуноглобулінові легкі ланцюги (тобто, є "повними молекулами антитіла"), а також їх антигензв'язуючі фрагменти. Терміни "антигензв'язуюча частина" антитіла, "антигензв'язуючий фрагмент" антитіла і т.п., як вони тут використовуються, включають будь-який природний, отриманий ферментативним шляхом, синтетичний або генетично сконструйований поліпептид або глікопротеїн, який специфічно зв'язує антиген з утворенням комплексу. Антигензв'язуючі фрагменти антитіла можуть бути отримані, наприклад, з повних молекул антитіла за допомогою будь-яких доцільних стандартних методів, таких як протеолітичний гідроліз або генна інженерія, що передбачають маніпуляцію і експресію ДНК, кодуєщої варіабельні і (необов'язково) постійні домени антитіла. Така ДНК є відомою і легко доступною з, наприклад, комерційних джерел, бібліотек ДНК (включаючи, наприклад, фагову дисплей-бібліотеку антитіл) або її можна синтезувати. Цю ДНК можна піддавати хімічному секвенуванню і маніпулюванню, або можна використовувати для цього методи молекулярної біології, наприклад щоб розмістити один або більше варіабельних та/або постійних доменів у відповідну конфігурацію або щоб ввести кодони, створити цистеїнові залишки, модифікувати, додати або вилучити амінокислоти і т.п.

Не обмежуючі приклади антигензв'язуючих фрагментів включають: (i) фрагменти Fab; (ii) фрагменти F(ab')₂; (iii) фрагменти Fd; (iv) фрагменти Fv; (v) одноланцюгові молекули Fv (scFv); (vi) фрагменти dAb; і (vii) мінімальні одиниці розпізнавання, які складаються з амінокислотних залишків, що імітують гіперваріабельну ділянку антитіла (наприклад, виділену ділянку, що визначає комплементарність (CDR), таку як пептид CDR3), або зв'язаний пептид FR3-CDR3-FR4. Інші сконструйовані молекули, такі як домен-специфічні антитіла, антитіла з єдиним доменом, антитіла з делецією домену, химерні антитіла, антитіла з пересадженою CDR, діатіла, тріотіла, тетратіла, мінітіла, нанотіла (наприклад, одновалентні нанотіла, двохвалентні антитіла і т.д.), імунофармацевтичні засоби на основі модульного білка малого розміру (SMIPs) і варіабельні домени IgNAR акули також охоплюються виразом "антигензв'язуючий фрагмент", як він тут використовується.

Антигензв'язуючий фрагмент антитіла типово буде містити щонайменше один варіабельний домен. Цей варіабельний домен може мати будь-який розмір або амінокислотний склад і загалом буде містити щонайменше одну CDR, яка є суміжною з однією або більше каркасних послідовностей або знаходиться в каркасі. В антигензв'язуючих фрагментах, що мають V_H домен, зв'язаний з V_L доменом, ці V_H і V_L домени можуть розміщуватись один відносно одного будь-яким доцільним чином. Наприклад, варіабельна ділянка може бути димерною і містити димери V_H-V_H, V_H-V_L або V_L-V_L. Як варіант, антигензв'язуючий фрагмент антитіла може містити мономерний домен V_H або V_L.

В певних варіантах здійснення антигензв'язуючий фрагмент антитіла може містити щонайменше один варіабельний домен, ковалентно зв'язаний з щонайменше одним постійним доменом. Не обмежуючі, показові конфігурації варіабельних і постійних доменів, які можуть міститись в антигензв'язуючому фрагменті антитіла за цим винаходом, включають: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H-C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii) V_H-C_L; (viii) V_L-C_H1; (ix) V_L-C_H2; (x) V_L-C_H3; (xi) V_L-C_H1-C_H2; (xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L-C_H2-C_H3; та (xiv) V_L-C_L. При будь-якій конфігурації варіабельного і постійного доменів, включаючи будь-яку з наведених вище показових конфігурацій, варіабельний і постійний домени можуть бути зв'язаними один з одним безпосередньо або через повну або часткову шарнірну або лінкерну ділянку. Шарнірна ділянка може складатись щонайменше з 2 (наприклад, 5, 10, 15, 20, 40, 60 або більше) амінокислот, що забезпечує гнучкий або напівгнучкий зв'язок між суміжними варіабельними та/або постійними доменами в єдиній поліпептидній молекулі. Більше того, антигензв'язуючий фрагмент антитіла за цим винаходом може містити гомодимер або гетеродимер (або інший мультимер) будь-якої з наведених вище конфігурацій варіабельного і постійного доменів в не ковалентному зв'язку один з одним та/або з одним або більше мономерним доменом V_H або V_L (наприклад, через дисульфідний зв'язок (зв'язки)).

Як і у випадку повних молекул антитіла, антигензв'язуючі фрагменти можуть бути моноспецифічними або мультиспецифічними (наприклад, біспецифічними). Мультиспецифічний антигензв'язуючий фрагмент антитіла типово буде містити щонайменше два різних варіабельних домени, де кожний варіабельний домен є здатним специфічно зв'язуватись з

окремим антигеном або з іншим епітопом на тому самому антигені. Будь-яку форму мультиспецифічного антитіла, включаючи описані тут показові форми біспецифічного антитіла, можна адаптувати для використання в контексті антигензв'язуючого фрагмента антитіла за цим винаходом за допомогою рутинних методів, наявних в цій галузі.

5 В певних варіантах здійснення антитіло або фрагменти антитіла за цим винаходом можуть бути кон'юговані до терапевтичного агента ("імунокон'югат"), такого як цитотоксин, хіміотерапевтичний агент, імуносупресант або радіоізотоп.

Термін "специфічно зв'язує" і т.п. означає, що антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент утворюють комплекс з антигеном, що є відносно стабільним за фізіологічних умов. Специфічне зв'язування може характеризуватись рівноважною константою дисоціації (K_D) близько 3000 нМ або менше (менше значення K_D означає більш щільне зв'язування), близько 2000 нМ або менше, близько 1000 нМ або менше, близько 500 нМ або менше, близько 300 нМ або менше, близько 200 нМ або менше, близько 100 нМ або менше, близько 50 нМ або менше, близько 1 нМ або менше або близько 0,5 нМ або менше. Методи для визначення того, або дві молекули зв'язуються специфічно, є добре відомими в цій галузі і включають, наприклад, рівноважний діаліз, поверхневий плазмонний резонанс і т.п. Виділене антитіло, яке специфічно зв'язує hTL1A, може однак демонструвати перехресну реактивність до інших антигенів, таких як молекули TL1A від інших видів, наприклад TL1A яванського макаки (SEQ ID №: 248), та/або TL1A миші (SEQ ID №: 250), та/або варіанту TL1A, такому як Fhm (SEQ ID №: 246). Більше того, мультиспецифічні антитіла (наприклад, біспецифічні), які зв'язуються з hTL1A і одним або більше додатковими антигенами, тим не менше вважаються антитілами, які "специфічно зв'язують" hTL1A, як цей термін тут використовується.

Термін антитіло "високої афінності" стосується антитіл, що мають афінність зв'язування з hTL1A, яка виражається як K_D близько 1×10^{-9} М або менше, близько $0,5 \times 10^{-9}$ М або менше, близько $0,25 \times 10^{-9}$ М або менше, близько 1×10^{-10} М або менше або близько $0,5 \times 10^{-10}$ М або менше, як визначається за допомогою поверхневого плазмонного резонансу, наприклад BIACORE™, або з використанням для визначення афінності в розчині аналізу ELISA.

Термін " K_D ", як він тут використовується, стосується рівноважної константи дисоціації конкретної взаємодії антитіло-антиген.

30 Термін "повільна швидкість дисоціації", "константа дисоціації" або " k_d " означає антитіло, яке дисоціює від hTL1A з константою швидкості $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ або менше, переважно $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ або менше, як визначається за допомогою поверхневого плазмонного резонансу, наприклад BIACORE™.

Термін "константа дійсної афінності" або " k_a " означає антитіло, яке зв'язується з hTL1A з константою швидкості близько $1 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ або більше, як визначається за допомогою поверхневого плазмонного резонансу, наприклад BIACORE™.

Термін "виділене антитіло", як він тут використовується, стосується антитіла, що є суттєво вільним від інших mAb, які мають відмінну антигенну специфічність (наприклад, виділене антитіло, яке специфічно зв'язує hTL1A, є суттєво вільним від Ab, що специфічно зв'язують антигени, інші ніж hTL1A). Однак виділене антитіло, яке специфічно зв'язує hTL1A, демонструє перехресну реактивність до інших антигенів, таких як молекули TL1A від інших видів, таких як яванський макака і миша, та/або варіантів hTL1A, таких як Fhm.

Термін "нейтралізуюче антитіло" (або "антитіло, яке нейтралізує активність TL1A), як він тут використовується, стосується антитіла, зв'язування якого з TL1A має своїм результатом пригнічення щонайменше однієї біологічної активності TL1A. Це пригнічення біологічної активності TL1A можна оцінити шляхом вимірювання одного або більше індикаторів біологічної активності TL1A одним або більше з кількох стандартних in vitro або in vivo аналізів, відомих в цій галузі (дивись також приклади, наведені далі).

Термін "поверхневий плазмонний резонанс", як він тут використовується, стосується оптичного феномену, який забезпечує аналіз біспецифічних взаємодій в реальному часі шляхом виявлення змін в концентрації білка в біосенсорній матриці, наприклад з використанням системи BIACORE™ (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Швеція і Piscataway, США).

Термін "епітоп" стосується ділянки антигену, яка зв'язується з антитілом. Епітипи можуть визначатись як структурні або функціональні. Функціональні епітопи є загалом підгрупою структурних епітопів і мають ті залишки, які вносять безпосередній внесок в афінність цієї взаємодії. Епітопи можуть також бути конформаційними, тобто складеними з нелінійних амінокислот. В певних варіантах здійснення епітопи можуть включати детермінанти, які є хімічно активними поверхневими угрупованнями молекул, таких як амінокислоти, бічні ланцюги цукру, фосфорильні групи або сульфонільні групи, і, в певних варіантах здійснення, можуть

мати специфічні тривимірні структурні характеристики та/або специфічні зарядні характеристики.

Термін "суттєва ідентичність" або "суттєво ідентичний", коли він стосується нуклеїнової кислоти або її фрагменту, вказує на те, що при оптимальному зіставленні з відповідними нуклеотидними вставками або делеціями з іншою нуклеїновою кислотою (або її комплементарною ниткою) має місце ідентичність нуклеотидних послідовностей щонайменше близько 90%, а краще щонайменше близько 95%, 96%, 97%, 98% або 99% нуклеотидних основ, що визначається за допомогою добре відомого алгоритму ідентичності послідовностей, такого як FASTA, BLAST або GAP, як буде розглянуто далі.

У застосуванні до поліпептидів термін "суттєва подібність" або "суттєво подібний" означає, що дві пептидні послідовності при оптимальному зіставленні, такому як за допомогою програм GAP або BESTFIT з використанням ваги пропусків за умовчанням, поділяють щонайменше 90% ідентичність послідовностей, а ще краще щонайменше 95%, 98% або 99% ідентичність послідовностей. Переважно, позиції залишків, які не є ідентичними, відрізняються консервативними амінокислотними заміщеннями. "Консервативне амінокислотне заміщення" – це таке заміщення, при якому амінокислотний залишок заміщується іншим амінокислотним залишком, що має бічний ланцюг (групу R) зі схожими хімічними властивостями (наприклад, зарядом або гідрофобністю). Загалом, консервативне амінокислотне заміщення не буде суттєво змінювати функціональні властивості білка. У випадках, коли дві або більше амінокислотні послідовності відрізняються одна від одної консервативними заміщеннями, відсоток або ступінь подібності можна підвищити, щоб внести поправку на консервативну природу такого заміщення. Засоби для здійснення такого регулювання є добре відомими спеціалістам в цій галузі. Дивись, наприклад, статтю Pearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331, яку включено сюди за посиланням. Приклади груп амінокислот, що мають бічні ланцюги з подібними хімічними властивостями, включають 1) аліфатичні бічні ланцюги: гліцин, аланін, валін, лейцин і ізолейцин; 2) аліфатичні-гідроксильні бічні ланцюги: серин і треонін; 3) бічні ланцюги, що містять амід: аспарагін і глютамін; 4) ароматичні бічні ланцюги: фенілаланін, тирозин і триптофан; 5) основні бічні ланцюги: лізин, аргінін і гістидин; 6) кислотні бічні ланцюги: аспартат і глютамат, і 7) бічні ланцюги, що містять сірку: цистеїн і метіонін. Кращими групами для консервативного амінокислотного заміщення є: валін-лейцин-ізолейцин, фенілаланін-тирозин, лізин-аргінін, аланін-валін, глютамат-аспартат і аспарагін-глютамін. Як варіант, консервативне заміщення – це будь-яка зміна, що має позитивну величину в матриці логарифмічної правдоподібності PAM250, описаній у статті Gonnet et al. (1992) *Science* 256: 1443 45, яку включено сюди за посиланням. "Помірно консервативне заміщення" – це будь-яка зміна, що має ненегативну величину в матриці логарифмічної правдоподібності PAM250.

Подібність послідовностей для поліпептидів типово оцінюється з використанням програми аналізу послідовностей. Програма аналізу білків підбирає подібні послідовності, використовуючи міри подібності, приписані різним заміщенням, делеціям або іншим модифікаціям, включаючи консервативні амінокислотні заміщення. Наприклад, програмне забезпечення GCG містить програми, такі як GAP і BESTFIT, які можуть використовуватись з параметрами за умовчанням для визначення гомології послідовностей або ідентичності послідовностей між близько спорідненими поліпептидами, такими як гомологічні поліпептиди від іншого виду організмів або між білком дикого типу і його мутантом. Дивись, наприклад, GCG Version 6.1. Поліпептидні послідовності можна порівнювати також з використанням FASTA з параметрами за умовчанням або рекомендованими параметрами; програми в GCG Version 6.1. FASTA (наприклад, FASTA2 і FASTA3) забезпечує зіставлення і визначення відсотку ідентичності послідовностей ділянок найкращого перекриття між запитаною і пошуковою послідовностями (Pearson, 2000, *supra*). Іншим зручним алгоритмом для порівняння послідовності за цим винаходом з базою даних, що містить велику кількість послідовностей від різних організмів, є комп'ютерна програма BLAST, зокрема BLASTP або TBLASTN, яка використовує параметри за умовчанням. Дивись, наприклад, статті Altschul et al., 1990, *J. Mol. Biol.* 215: 403 410 і, 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389 402, кожен з яких включено сюди за посиланням.

Вираз "терапевтично ефективна кількість" означає таку кількість, яка викликає бажаний ефект, для якого вона вводиться. Точна кількість буде залежати від мети лікування, віку і розміру суб'єкта, що лікується, шляху введення і т.п. і буде визначатись спеціалістом в цій галузі за допомогою відомих методик (дивись, наприклад, Lloyd (1999) *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding*).

Приготування людських антитіл

Методи генерування людських антитіл в трансгенних мишах є відомими в цій галузі. Будь-які такі відомі методи можуть бути використані в контексті даного винаходу для одержання людських антитіл, які специфічно зв'язуються з TL1A.

При використанні технології VELOCIMMUNE™ або будь-якого іншого відомого методу для генерування моноклональних антитіл спочатку виділяють високо афінні химерні антитіла до TL1A, що мають людську варіабельну ділянку і мишачу постійну ділянку. Як показано в наведеному далі експериментальному розділі, ці антитіла охарактеризовують і відбирають за бажаними характеристиками, включаючи афінність, селективність, епітоп і т.п.

Загалом, антитіла за цим винаходом володіють дуже високою афінністю, типово маючи K_D від близько 10^{-12} М до близько 10^{-9} М, при визначенні шляхом зв'язування з антигеном, іммобілізованим на твердій фазі або у фазі розчину. Мишачі постійні ділянки заміщуються бажаними людськими постійними ділянками, наприклад IgG1 дикого типу (SEQ ID №: 255) або IgG4 (SEQ ID №: 256), або модифікованим IgG1 або IgG4 (наприклад, IgG4 з Ser-108, заміщеним на Pro, як показано в SEQ ID №: 257), для створення повністю людських антитіл за цим винаходом. Тоді як вибрана постійна ділянка може варіювати у відповідності до конкретного використання, такі характеристики антитіла, як зв'язування антигену з високою афінністю і специфічність до мішені, належать варіабельній ділянці.

Картування епітопів і споріднені технології

Для скринінгу антитіл, що зв'язуються з конкретним епітопом, можна здійснити рутинний епітоп перехресний конкурентний аналіз, такий як описаний в Antibodies, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY). Інші методи включають скануючий аланіном мутагенез, пептидний блотинг (Reineke, 2004, Methods Mol Biol 248:443-63) (спеціально включено сюди за посиланням у всій повноті) або аналіз розщеплення пептидів. Крім того, можна скористатись такими методами, як висічення епітопу, екстракція епітопу і хімічна модифікація антигенів (Tomer, 2000, Protein Science 9: 487-496) (спеціально включено сюди за посиланням у всій повноті).

Термін "епітоп" стосується місця на антигені, на яке реагують В та/або Т клітини. В-клітинні епітопи можуть бути утворені як з суміжних амінокислот, так і з несуміжних амінокислот, які накладаються при третинній укладці білка. Епітопи, утворені з суміжних амінокислот типово зберігаються під дією денатуруючих розчинників, тоді як епітопи, утворені шляхом третинної укладки типово втрачаються після обробки денатуруючими розчинниками. Епітоп типово містить щонайменше 3, а частіше щонайменше 5 або 8-10 амінокислот в унікальній просторовій конформації.

Профілювання з використанням модифікації (MAP), відоме також як профілювання антитіла на основі структури антигену (ASAP), є методом, який розподіляє за категоріями великі кількості mAb, спрямованих проти того самого антигену, у відповідності до подібності профілю зв'язування кожного антитіла з хімічно або ферментативно модифікованими поверхнями антигену (патентна заявка США № 2004/0101920, спеціально включений сюди за посиланням у всій його повноті). Кожна категорія може відображати унікальний епітоп, який чітко відрізняється від епітопу, представленого іншою категорією, або частково перекривається з ним. Така технологія дозволяє швидко відфільтрувати генетично ідентичні mAb, так що встановлення характеристик може фокусуватись на генетично відмінних mAb. При застосуванні до скринінгу гібридом MAP може забезпечити ідентифікацію рідкісних клонів гібридом, які продукують mAb, що мають бажані характеристики. MAP можна скористатись для сортування анти-TL1A mAb за цим винаходом на групи mAb, що зв'язуються з різними епітопами.

Даний винахід включає hTL1A антитіла, які зв'язуються з тим самим епітопом, що й будь-яке з описаних тут конкретних показових антитіл. Подібним чином, даний винахід включає також анти-hTL1A антитіла, які конкурують за зв'язування з hTL1A або фрагментом hTL1A з будь-яким з описаних тут конкретних показових антитіл.

Можна легко визначити, або зв'язується антитіло з тим самим епітопом, що й контрольне анти-hTL1A антитіло, або воно конкурує за зв'язування з контрольним анти-hTL1A антитілом, користуючись рутинними методами, відомими в цій галузі. Наприклад, щоб визначити, або тестове антитіло зв'язується з тим самим епітопом, що й контрольне анти-hTL1A антитіло за цим винаходом, контрольному антитілу дозволяють зв'язатись з білком або пептидом hTL1A за умов насичення. Потім оцінюють здатність тестового антитіла зв'язуватись з молекулою hTL1A. Якщо тестове антитіло демонструє здатність зв'язуватись з hTL1A після зв'язування за умов насичення з контрольним анти-hTL1A антитілом, можна зробити висновок, що тестове антитіло зв'язується з іншим епітопом, ніж контрольне анти-hTL1A антитіло. З іншого боку, коли тестове антитіло не здатне зв'язуватись з молекулою hTL1A після насичуючого зв'язування з

контрольним анти-hTL1A антитілом, то це означає, що тестове антитіло може зв'язуватись з тим самим епітопом, що й епітоп, зв'язаний з контрольним анти-hTL1A антитілом за цим винаходом.

Щоб визначити, або конкурує антитіло за зв'язування з контрольним анти-hTL1A антитілом, вищеописана методологія зв'язування здійснюється в двох орієнтаціях: В першій орієнтації контрольному антитілу дають зв'язатись з молекулою hTL1A за умов насичення, після чого оцінюють зв'язування тестового антитіла з молекулою hTL1A. В другій орієнтації тестовому антитілу дають зв'язатись з молекулою hTL1A за умов насичення, після чого оцінюють зв'язування контрольного антитіла з молекулою TL1A. Коли в обох орієнтаціях тільки перше (насичуюче) антитіло є здатним зв'язуватись з молекулою TL1A, робиться висновок про те, що тестове антитіло і контрольне антитіло конкурують за зв'язування з hTL1A. Як має бути зрозумілим для спеціаліста в цій галузі, антитіло, яке конкурує за зв'язування з контрольним антитілом, не обов'язково має зв'язуватись з епітопом, ідентичним тому, з яким зв'язується контрольне антитіло, але може просторово блокувати зв'язування контрольного антитіла зв'язуванням частково збіжного або суміжного епітопу.

Два антитіла зв'язуються з тим самим або частково збіжним епітопом, якщо кожне конкурентно пригнічує (блокує) зв'язування іншого до антигену. Тобто, 1-, 5-, 10-, 20- або 100-кратний надлишок одного антитіла пригнічує зв'язування іншого щонайменше на 50%, але краще на 75%, 90% або навіть 99%, що визначається в пробі на конкурентне зв'язування (дивись, наприклад, Junghans et al., Cancer Res. 1990:50:1495-1502). Як варіант, два антитіла мають той самий епітоп, якщо суттєво всі амінокислотні мутації в антигені, які зменшують або усувають зв'язування одного антитіла зменшують або усувають зв'язування іншого.

Потім можна провести додаткову рутинну експериментальну перевірку (наприклад, з використанням аналізів мутації пептидів і зв'язування), щоб переконатись у тому, що спостережувана відсутність зв'язування тестового антитіла дійсно пов'язана з його зв'язуванням з тим самим епітопом, що й контрольне антитіло, або в тому, що відповідальним за спостережувану відсутність зв'язування є просторове блокування (або інше явище). Експерименти цього виду можуть здійснюватись з використанням ELISA, RIA, поверхневого плазмонного резонансу, проточної цитометрії або будь-якої іншої кількісної або якісної проби на зв'язування антитіла, відомої в цій галузі.

Імунокон'югати

Даний винахід охоплює людське анти-TL1A моноклональне антитіло, кон'юговане до терапевтичного фрагмента ("імунокон'югат"), такого як цитотоксин, хіміотерапевтичний препарат, імуносупресант або радіоізотоп. Цитотоксинові агенти включають будь-який препарат, що є шкідливим для клітин. Приклади придатних цитотоксинових агентів і хіміотерапевтичних препаратів для утворення імунокон'югатів є відомими в цій галузі (дивись, наприклад, публікацію WO 05/103081, яку спеціально включено сюди за посиланням).

Біспецифічні антитіла

Антитіла за цим винаходом можуть бути моноспецифічними, біспецифічними або мультиспецифічними. Мультиспецифічні mAb можуть бути специфічними для різних епітопів одного цільового поліпептиду або можуть містити антигензв'язуючі домени, специфічні для більше ніж одного цільового поліпептиду. Дивись, наприклад, Tutt et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69. Людські анти-hTL1A антитіла можуть бути зв'язаними з іншою функціональною молекулою або ко-експресуватись з іншою функціональною молекулою, наприклад іншим пептидом або білком. Наприклад, антитіло або його фрагмент можуть функціонально зв'язуватись (наприклад, шляхом хімічного з'єднання, генетичного злиття, нековалентної асоціації або по-іншому) з однією або більше іншими молекулярними одиницями, такими як інше антитіло або фрагмент антитіла, з отриманням біспецифічного або мультиспецифічного антитіла з другою специфічністю зв'язування.

Форма показового біспецифічного антитіла, яка може використовуватись в контексті даного винаходу, передбачає застосування першого імуноглобулінового (Ig) домену C_H3 і другого Ig домену C_H3, при цьому перший і другий домени C_H3 відрізняються один від одного щонайменше однією амінокислотою і щонайменше одна амінокислотна відмінність зменшує зв'язування біспецифічного антитіла з Білком А порівняно з біспецифічним антитілом з відсутньою відмінністю амінокислот. В одному варіанті здійснення перший імуноглобуліновий домену C_H3 зв'язує Білок А, а другий Ig домен C_H3 містить мутацію, яка зменшує або усуває зв'язування Білка А, таку як модифікація H95R (за нумерацією екзонів IMGT (ця нумерація починається з першого нуклеотиду першого кодону кожного екзону); H435R за нумерацією EU). Другий домен C_H3 може додатково містити модифікацію Y96F (за IMGT; Y436F за EU). Подальші модифікації, які можуть бути знайдені в другому домені C_H3, включають: D16E, L18M, N44S, K52N, V57M і V82I (за IMGT; D356E, L358M, N384S, K392N, V397M і V422I за EU) у випадку IgG1 антитіл;

N44S, K52N і V82I (IMGT; N384S, K392N і V422I за EU) у випадку IgG2 антитіл; та Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q і V82I (за IMGT; Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q і V422I за EU) у випадку IgG4 антитіл. Припускається, що вищеописані варіації у формі біспецифічного антитіла входять до об'єму даного винаходу.

5 Біоеквіваленти

Анти-hTL1A антитіла і фрагменти антитіл за даним винаходом охоплюють білки, що мають амінокислотні послідовності, які відрізняються від послідовностей описаних mAb, але які зберігають здатність зв'язувати людський TL1A. Такі варіантні mAb і фрагменти антитіл містять одну або більше вставок, делецій або заміщень амінокислот у порівнянні з материнською послідовністю, але демонструють біологічну активність, яка є суттєво еквівалентною активності описаних mAb. Подібним чином, кодуєчі hTL1A mAb послідовності ДНК за цим винаходом охоплюють послідовності, які містять одну або більше вставок, делецій або заміщень нуклеотидів у порівнянні з описаною послідовністю, але які кодують анти-hTL1A антитіло або фрагмент антитіла, що є суттєво біоеквівалентними анти-hTL1A антитілу або фрагменту антитіла за цим винаходом. Приклади таких варіантних амінокислотних і ДНК послідовностей вже наводились вище.

Два антигензв'язуючі білки або антитіла вважаються біоеквівалентними, коли, наприклад, вони є фармацевтичними еквівалентами або фармацевтичними альтернативами, швидкість і ступінь абсорбції яких не показують значної різниці, коли вводяться в тій самій молярній дозі в подібних експериментальних умовах, після однієї або кількох введень. Певні антитіла будуть вважатись еквівалентами або фармацевтичними альтернативами, коли вони є еквівалентними у відношенні ступеня їх абсорбції і, крім того, можуть вважатись біоеквівалентними, оскільки такі відмінності в швидкості абсорбції є навмисними і є відображеними в позначенні, є несуттєвими для досягнення ефективної концентрації препарату в організмі після, наприклад, хронічного застосування і вважаються несуттєвими з медичної точки зору для конкретного досліджуваного лікарського продукту. В одному варіанті здійснення два антигензв'язуючі білки є біоеквівалентними, коли немає клінічно значимих відмінностей в їх безпечності, чистоті або активності.

В одному варіанті здійснення два антигензв'язуючі білки є біоеквівалентними, коли пацієнта можна переключати один або більше разів між контрольним продуктом і біологічним продуктом без очікуваного підвищення ризику несприятливих ефектів, включаючи клінічно значиму зміну імуногенності або знижену ефективність у порівнянні з продовженням терапії без такого переключення.

В одному варіанті здійснення два антигензв'язуючі білки є біоеквівалентними, коли обидва діють за спільним механізмом або механізмами дії у випадку стану або станів, для яких вони використовуються, до тієї міри, до якої такі механізми є відомими.

Біоеквівалентність можна продемонструвати методами *in vivo* та *in vitro*. Міри біоеквівалентності включають, наприклад, (a) тест *in vivo* на людях або інших ссавцях, в якому концентрація антитіла або його метаболітів визначається в крові, плазмі, сироватці або іншій біологічній рідині як функція часу; (b) тест *in vitro*, який було скориговано з даними щодо біодоступності *in vivo* і який є надійно прогностичним для людини; (c) тест *in vivo* на людях або інших ссавцях, в якому відповідний гострий фармакологічний ефект антитіла (або його мішені) визначається як функція часу; і (d) в добре контрольованому клінічному випробуванні, яке встановлює безпечність, ефективність або біодоступність або біоеквівалентність антитіла.

Біоеквівалентні варіанти анти-hTL1A антитіл за цим винаходом можуть конструюватись, наприклад, шляхом різних заміщень залишків або послідовностей або делеції термінальних або внутрішніх залишків або послідовностей, не потрібних для біологічної активності. Наприклад, цистеїнові залишки, несуттєві для біологічної активності, можуть бути піддані делеції або заміщенню іншими амінокислотами, щоб попередити утворення непотрібних або неправильних внутрішньо-молекулярних дисульфідних містків після ренатурації.

Терапевтичне введення і препарати

Даний винахід пропонує терапевтичні композиції, які містять анти-hTL1A антитіла або їх антигензв'язуючі фрагменти за цим винаходом, а також терапевтичні способи, в яких вони використовуються. Введення терапевтичних композицій у відповідності до даного винаходу передбачає застосування відповідних носіїв, допоміжних речовин та інших агентів, які включаються в лікарські препарати для забезпечення кращого перенесення, доставки, переносимості і т.п. Велику кількість відповідних препаратів можна знайти у формулярі, відомому всім фармацевтичним хімікам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Ці препарати включають, наприклад, порошки, пасти, мазі, желе, воски, олії, ліпіди, пухирці, що містять ліпіди (катионні і аніонні) (такі як LIPOFECTIN™), кон'югати ДНК,

безводні абсорбційні пасти, емульсії олія-у-воді і вода-в олії, емульсії карбовакс (поліетилен гліколі різної молекулярної маси), напівтверді гелі і напівтверді суміші, що містять карбовакс. Дивись також Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA, 1998, J Pharm Sci Technol 52:238-311.

5 Доза може коливатись в залежності від віку і розмірів суб'єкта, якому вона вводиться, цільової хвороби, мети лікування, умов, шляху введення і т.п. Коли антитіло за цим винаходом використовується для лікування різних станів і хвороб, прямо або непрямо пов'язаних з TL1A, включаючи запальні хвороби/розлади, автоімунні хвороби/розлади, алергічні реакції і т.п., у дорослого пацієнта, доцільно вводити антитіло за цим винаходом внутрішньовенно або
10 підшкірно в єдиній дозі від близько 0,01 до близько 20 мг/кг маси тіла, краще від близько 0,02 до близько 7, від близько 0,03 до близько 5 або від близько 0,05 до близько 3 мг/кг маси тіла. В залежності від тяжкості стану, частота і тривалість лікування можуть регулюватись. В певних варіантах здійснення антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент за цим винаходом можуть вводитись в початковій дозі від щонайменше близько 0,1 мг до близько 800 мг, від близько 1 до
15 близько 500 мг, від близько 5 до близько 300 мг або від близько 10 до близько 200 мг, до близько 100 мг або до близько 50 мг. В певних варіантах здійснення за початковою дозою може слідувати введення другої або певної кількості наступних доз антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента в кількості, яка може бути такою ж або меншою ніж початкова доза, коли наступні дози відділяються щонайменше 1-3 днями, щонайменше тижнем,
20 щонайменше 2 тижнями, щонайменше 3 тижнями; щонайменше 4 тижнями; щонайменше 5 тижнями; щонайменше 6 тижнями; щонайменше 7 тижнями; щонайменше 8 тижнями; щонайменше 9 тижнями; щонайменше 10 тижнями; щонайменше 12 тижнями; або щонайменше 14 тижнями.

Різні системи доставки є відомими і можуть бути використані для введення фармацевтичної композиції за цим винаходом, наприклад інкапсуляція в ліпосоми, мікрочастки, мікрокапсули, рекомбінантні клітини, здатні експресувати мутантні віруси, опосередкований рецептором ендцитоз (дивись, наприклад, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Методи введення включають, не обмежуючись ними, інтрадермальний, внутрішньом'язовий, інтраперитонеальний, внутрішньовенний, підшкірний, інтраназальний, епідуральний і оральний
30 шляхи. Така композиція може вводитись будь-яким звичайним шляхом, наприклад інфузії або болюсної ін'єкції, всмоктування через епітеліальні і слизово-шкірні вистилання (наприклад, оральну слизову оболонку, ректальну і кишкову слизову оболонку і т.п.) і може вводитись разом з іншими біологічно активними агентами. Введення може бути системним або місцевим.

Фармацевтична композиція може доставлятися також в пухирцях, зокрема в ліпосомах (дивись Langer, 1990, Science 249:1527-1533; Treat et al., 1989, в Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365; Lopez-Berestein, ibid., pp. 317-327; дивись загалом ibid.).

В певних ситуаціях фармацевтична композиція може доставлятися за допомогою системи контрольованого вивільнення. В одному варіанті здійснення може використовуватись насос (дивись Langer, supra; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). В іншому варіанті здійснення можуть використовуватись полімерні матеріали; дивись, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974). В ще іншому варіанті здійснення система контрольованого вивільнення може розміщуватись поблизу мішені композиції, що вводиться, тим самим вимагаючи тільки частки системної дози (дивись, наприклад, Goodson, в Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138, 1984).

Ін'єкційні препарати можуть включати лікарські форми для внутрішньовенних, підшкірних, інтрадермальних або внутрішньом'язових ін'єкцій, крапельних інфузій і т.п. Такі ін'єкційні препарати можуть готуватись загальновідомими методами. Наприклад, ін'єкційні препарати можуть готуватись, наприклад, шляхом розчинення, суспендування або емульгування антитіла
50 або його солі, описаних вище, в стерильному водному середовищі або олійному середовищі, які звичайно використовуються для ін'єкцій. В якості водного середовища для ін'єкцій можуть використовуватись, наприклад, фізіологічний сольовий розчин, ізотонічний розчин, що містить глюкозу та інші допоміжні речовини, і т.п., які можуть комбінуватись з відповідними агентами для солюбілізації, такими як спирт (наприклад, етиловий спирт), поліспирт (наприклад, пропілен гліколь, поліпропілен гліколь), неіонний сурфактант [наприклад, полісорбат 80, HCO-50 (поліоксietenіленовий (50 моль) адукт гідрогенізованої рицинової олії)] і т.д. В якості олійного середовища для ін'єкцій можуть використовуватись, наприклад, кунжутна олія, соєва олія, які можуть комбінуватись з відповідними агентами для солюбілізації, такими як бензил бензоат, бензиловий спирт і т.д. Ін'єкційний матеріал, приготовлений у такий спосіб, переважно міститься
60 у відповідних ампулах. Фармацевтична композиція за цим винаходом може доставлятися

підшкірно або внутрішньовенно стандартною голкою і шприцом. Крім того, що стосується підшкірної доставки, шприц-ручка може бути легко застосована для доставки фармацевтичної композиції за цим винаходом. Такі шприц-ручки можуть призначатись для одноразового і повторного використання. Шприц-ручка для повторного використання загалом використовує

5 заміний картридж, який містить фармацевтичну композицію. Коли вся фармацевтична композиція з картриджу введена і картридж є порожнім, порожній картридж легко видаляється і замінюється новим картриджем, який містить фармацевтичну композицію. Шприц-ручка може потім використовуватись повторно. В одноразовому шприці-ручці немає замінного картриджу. Такий шприц-ручка попередньо наповнюється фармацевтичною композицією, яка утримується в

10 резервуарі всередині ручки. Коли резервуар спорожняється, весь пристрій викидають.

Численні шприци-ручки для повторного використання і автоінжекторні пристрої для доставки знаходять застосування для підшкірного введення фармацевтичної композиції за цим винаходом. Приклади включають, звичайно не обмежуючись ними, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, Велика Британія), шприц-ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical

15 Systems, Burghdorf, Швейцарія), шприц-ручку HUMALOG MIX 75/25™, шприц-ручку HUMALOG™, шприц-ручку HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Indianapolis, США), NOVOPEN™ I, II and III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Данія), шприц-ручку BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, США), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ і OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Німеччина), щоб назвати тільки

20 деякі. Приклади одноразових шприц-ручок для доставки медикаментів, що знаходять застосування для підшкірного введення фармацевтичної композиції за цим винаходом, включають, звичайно не обмежуючись ними, шприц-ручку SOLOSTAR™ (sanofi-aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) та KWIKPEN™ (Eli Lilly).

Переважно, фармацевтичні композиції для орального або парентерального застосування, описані вище, готуються як лікарські форми в одноразовій дозі, яка відповідає дозі активних інгредієнтів. Такі лікарські форми в одноразовій дозі включають, наприклад, таблетки, пігулки, капсули, ін'єкції (ампули), супозиторії і т.п. Кількість раніше вказаного антитіла, що міститься в них, загалом становить від близько 0,1 до близько 800 мг на одну лікарську форму в одноразовій дозі; зокрема у формі ін'єкції, раніше вказане антитіло міститься в кількості від

30 близько 1 до близько 500 мг, від близько 5 до 300 мг, від близько 8 до 200 мг і від близько 10 до близько 100 мг для інших лікарських форм.

Комбінаційна терапія

Даний винахід додатково пропонує терапевтичні способи лікування хвороб або розладів, які прямо або непрямо асоціюються з hTL1A, шляхом введення hTL1A mAb або його фрагмента за цим винаходом в комбінації з одним або більше додатковими терапевтичними агентами. Такий додатковий терапевтичний агент може бути одним або більше з будь-яких агентів, які з користю комбінуються з антитілом або його фрагментом за цим винаходом, включаючи імуносупресанти, протизапальні агенти, анальгетики, протиалергійні агенти і т.п. Придатні імуносупресанти включають, не обмежуючись ними, глюкокортикоїди, циклоспорин, метотрексат, інтерферон β

40 (IFN-β), такролімус, сіролімус, азатіоприн, меркаптопурин, опіоїди, мікофенолат, білки, що зв'язують TNF, такі як інфліксимаб, етернацепт, адалімумаб і т.п., цитотоксичні антибіотики, такі як дактиномицин, антрацикліни, мітоміцин С, блеоміцин, мітраміцин і т.п., антитіла, націлені на імунні клітини, такі як анти-CD20 антитіла, анти-CD3 антитіла і т.п. Придатні протизапальні агенти та/або анальгетики для комбінаційної терапії з анти-hTL1A антитілами включають

45 кортикостероїди, не стероїдні протизапальні препарати (NSAIDs), такі як аспірин, ібупрофен, напроксен, інгібітори Cox-2 і т.п., антагоністи TNF-α (наприклад, інфліксимаб або REMICADE® від Centocor Inc.; голіумаб від Centocor Inc.; етанерцепт або ENBREL® від Amgen/Wyeth; адалімумаб або HUMIRA® від Abbott Laboratories і т.п.), антагоністи IL-1 (наприклад, IL-1-зв'язуючі злиті білки, наприклад, Arcalyst® від Regeneron Pharmaceuticals, Inc., дивись патент США № 6,927,044; Kineret® від Amgen і т.п.), антагоністи IL-6 (наприклад, анти-IL-6 рецепторні антитіла, як описано в патенті США № 7,582,298, і Actemra® від Roche), ацетамінофен, морфіноміметики і т.п. Придатні протиалергійні агенти, які можуть блокувати дію медіаторів алергії або попереджати активацію клітин і процеси дегрануляції, включають антигістаміни, глюкокортикоїди, епінефрин (адреналін), теофілін, натрієву сіль кромоліну і анти-лейкотрієни,

55 такі як монтелукаст (SINGULAIR® від Merck) або зафірлукаст (ACCOLATE® від AstraZeneca), а також анти-холінергічні агенти, протизастійні агенти, стабілізатори тучних клітин та інші сполуки, які можуть порушувати хемотаксис еозинофілів.

hTL1A mAb або його фрагмент за цим винаходом і додатковий терапевтичний агент (агенти) можуть водитись разом або окремо. Коли використовуються окремі дозовані лікарські форми, антитіло або його фрагмент за цим винаходом і додатковий терапевтичний агент можуть

60

водитись одночасно або окремо з певним зміщенням у часі, тобто послідовно, у певному порядку.

ПРИКЛАДИ

Наступні приклади наведені так, щоб забезпечити спеціаліста в цій галузі повним розкриттям і описом того, як здійснити і використати способи і композиції за цим винаходом, але вони не призначаються для того, щоб обмежити об'єм того, що винахідники вважають своїм винаходом. Були вжиті заходи, щоб гарантувати точність у відношенні використаних цифр, але слід враховувати можливість певних експериментальних похибок і відхилень. Коли не вказується інше, молекулярна маса є середньою молекулярною масою, температура дається в градусах Цельсія, а тиск є атмосферним або близьким до атмосферного.

Приклад 1: Генерування людських антитіл до людського TL1A

Мишей VELOCIMMUNE™ було імунізовано людським TL1A, і гуморальна імунна відповідь контролювалась за допомогою антиген-специфічного імуноаналізу з використанням сироватки, отриманої від цих мишей. В клітини, що експресують анти-hTL1A антитіло, були зібрані з селезінки імунізованих мишей, які мали підвищені титри анти-hTL1A антитіла, і були злиті з клітинами мишачої мієломи з утворенням гібридом. Ці гібридами були піддані скринінгу і відбору, щоб ідентифікувати клітинні лінії, що експресують hTL1A-специфічні антитіла, з використанням аналізів, які будуть описані далі. Ці аналізи дозволили ідентифікувати кілька клітинних ліній, які продукували химерні анти-hTL1A антитіла, позначені як H2M1681N, H2M1704N, H2M1804N, H2M1805N, H2M1817N і H2M1818N. Ці антитіла пізніше були перетворені на ізотип IgG4 шляхом заміщення відповідних мишачих постійних ділянок амінокислотою послідовністю IgG4 SEQ ID №: 257, яка містить мутацію S108P в шарнірній ділянці, і позначені як H4H1681N, H4H1704N, H4H1804N, H4H1805N, H4H1817N і H4H1818N, відповідно.

Людські TL1A-специфічні антитіла були виділені також безпосередньо з імунізованих антигеном В клітин, без злиття з клітинами мієломи, як описано в патенті США № 7,582,298, який включено сюди за посиланням у всій його повноті. Варіабельні ділянки важкого і легкого ланцюгів було клоновано, щоб генерувати повністю людські анти-hTL1A антитіла, позначені як H4H1719P, H4H1725P, H4H1738P, H4H1742P, H4H1745P, H4H1750P і H4H1752P. Були встановлені стабільні рекомбінантні клітинні лінії CHO, які експресують антитіло.

Приклад 2: Аналіз утилізації варіабельного гену

Щоб проаналізувати структуру отриманих антитіл, нуклеїнові кислоти, кодуєчі варіабельні ділянки антитіла було клоновано і піддано секвенуванню. За послідовністю нуклеїнових кислот і прогнозованою амінокислотою послідовністю цих антитіл було ідентифіковано частоту використання гену для кожної варіабельної ділянки важкого ланцюга (HCVR) і варіабельної ділянки легкого ланцюга (LCVR). В Таблиці 1 наведена частота використання гену для вибраних антитіл у відповідності до цього винаходу.

Таблиця 1

Антитіло	HCVR			LCVR	
	V _H	D _H	J _H	V _K	J _K
H2M1704	3-7	1-7	6	4-1	3
H2M1681	3-23	2-21	4	1-5	1
H2M1817	4-34	3-9	4	3-20	4
H2M1804	4-34	1-1	4	3-20	4
H2M1818	3-11	4-17	6	4-1	1
H2M1805	4-34	3-3	4	2-24	4
H4H1719	3-9	3-3	6	2-28	2
H4H1725	1-2	2-15	3	1-12	4
H4H1738	3-15	4-4	6	2-28	2
H4H1742	3-23	2-2	6	1-9	2
H4H1745	3-23	6-6	4	1-9	4
H4H1750	3-30	4-17	6	1-17	1
H4H1752	3-23	1-7	4	1-5	1

В Таблиці 2 наведені пари амінокислотних послідовностей варіабельних ділянок важкого і легкого ланцюгів вибраних анти-hTL1A антитіл та їх відповідних антитільних ідентифікаторів. Позначення N і P стосуються антитіл, що мають важкий і легкий ланцюги, з ідентичними послідовностями CDR, але з варіаціями послідовностей на ділянках поза послідовностями CDR

(тобто, на каркасах ділянках). Таким чином, варіанти N і Р конкретного антитіла мають ідентичні послідовності CDR в межах варіабельних ділянок важкого і легкого ланцюгів, але містять модифікації в межах каркашних ділянок.

Таблиця 2

Назва mAb (H2M- або H4H-)	HCVR/LCVR SEQ ID №№:	Назва mAb (H2M- або H4H-)	HCVR/LCVR SEQ ID №№:
1704N	2/10	1738N	138/146
1681N	18/26	1738P	154/156
1804N	34/42	1745N	158/166
1805N	50/58	1745P	174/176
1817N	66/74	1750N	178/186
1818N	82/90	1750P	194/196
1719N	98/106	1752N	198/206
1719P	114/116	1752P	214/216
1725N	118/126	1742N	218/226
1725P	134/136	1742P	234/236

5

Приклад 3: Визначення афінності до зв'язування TL1A

Афінність до зв'язування і кінетичні константи визначались за допомогою поверхневого плазмонного резонансу при 25 °C і 37 °C, як показано в Таблицях 3-5 для зв'язування людських моноклональних анти-TL1A антитіл до наступних видів варіантів TL1A: людське (h) (CHO-експресоване, залишки 72-251 послідовності SEQ ID №: 244, з N-термінальною His₆-міткою), яванського макаки (Mf) (E. coli-експресоване, залишки 72-251 послідовності SEQ ID №: 248, з або без N-термінального Met), яванського макаки (CHO-експресоване, залишки 72-251 послідовності SEQ ID №: 248, з N-термінальною His₆-міткою), мишаче (m) (E. coli-експресоване, залишки 76-252 послідовності SEQ ID №: 250, з або без N-термінального Met), мишаче (CHO-експресоване, залишки 76-252 послідовності SEQ ID №: 250, з N-термінальною His₆-міткою), і щуряче (CHO клітками-експресоване; залишки 76-252 послідовності SEQ ID №: 258, з N-термінальною His₆-міткою). Константи зв'язування також були визначені для варіанту hTL1A, Fhm (E. coli-експресований, залишки 72-251 послідовності SEQ ID №: 246, що містить заміщення Q167R, з або без N-термінального Met). Визначення здійснювались за допомогою приладу T100 BIACORE™. Антитіла, експресовані з мишачим Fc (позначений префіксом "H2M") або людським IgG4(S108P) Fc (позначений префіксом "H4H"), були захоплені на анти-Fc сенсорній поверхні, і щонайменше три різні концентрації розчинних білків TL1A в межах від 1,25 нМ до 100 нМ інjektували на сенсорну поверхню. Константи швидкості кінетичної асоціації (k_a) і дисоціації (k_d) були визначені шляхом підгонки даних до моделі зв'язування 1:1 з використанням програмного забезпечення для підгонки кривої BIAevaluation 4.1 (BIAcore Life Sciences). Молярні концентрації TL1A/Fhm, використані при підгонці даних, припускали мономерний стан для TL1A в розчині. Рівноважні константи дисоціації при зв'язуванні (K_D) і півперіоди дисоціації ($t_{1/2}$) обчислювались за кінетичними константами швидкості наступним чином: K_D (M) = k_d / k_a ; і $t_{1/2}$ (хв.) = $[\ln 2 / (60 \cdot k_d)]$. NB: За тестових умов зв'язування відсутнє; NT: Не тестувалось в цьому експерименті; *: Підібрані величини k_d нижче 1×10^{-6} (1/с) є більш повільними ніж межа виявлення за цих експериментальних умов; відповідно, величини k_d були встановлені на 1×10^{-6} (1/с) з метою апроксимації K_D і $t_{1/2}$; **: Рівноважні константи дисоціації для антитіл визначались за умов, що встановились.

Як показано в Таблицях 3 і 4, антитіла, зв'язані з високою афінністю з CHO-експресованими формами людського і мавпячого білків TL1A при 25 °C (13 і 12 антитіл з $K_D < 1$ нМ, відповідно) і при 37 °C (13 і 12 антитіл з $K_D < 1$ нМ, відповідно). H4H1750P зв'язувалось значно слабше з мавпячим порівняно з людським білком TL1A. H4H1704N зв'язувалось з CHO-експресованим mTL1A з $K_D < 2$ нМ при обох температурах – 25 °C і 37 °C. H4H1818N зв'язувало CHO-експресований mTL1A при 25 °C ($K_D \sim 7$ нМ), але не при 37 °C. П'ять антитіл, H4H1681N, H4H1738P, H4H1750P, H4H1752P і H4H1805N, не зв'язувались з CHO-експресованим щурячим TL1A ні при 25 °C, ні при 37 °C; інші вісім антитіл зв'язувались з щурячим TL1A при обох температурах з K_D в межах від $\sim 0,6$ пМ до ~ 16 нМ.

Як показано в Таблиці 5, три антитіла (H2M1681N, H4H1752P і H2M1805N) не демонстрували зв'язування з експресованим E. coli варіантом Fhm [hTL1A(Q167R)] за умов тестування. Три антитіла (H2M1704N, H4H1725P і H2M1818N) демонстрували слабке зв'язування (K_D в межах від ~ 60 нМ до ~ 170 нМ) з мишачим, експресованим E. coli TL1A при

оцінці за умов, що встановились, хоча всі інші тестовані антитіла не зв'язувались з мишачим білком TL1A за умов тестування.

Таблиця 3

mAb	CHO-експресований TL1A при 25 °C							
	hTL1A K _D (пМ)	hTL1A t _{1/2} (хв.)	MfTL1A K _D (пМ)	MfTL1A t _{1/2} (хв.)	mTL1A K _D (пМ)	mTL1A t _{1/2} (хв.)	rTL1A K _D (пМ)	rTL1A t _{1/2} (хв.)
H4H1681N	263	36	404	25	NB	NB	NB	NB
H4H1704N	39,2	453	59,9	276	194	46	404	25
H4H1719P	481	44	417	45	NB	NB	364	38
H4H1725P	63,6	185	346	64	NB	NB	317	26
H4H1738P	608	64	361	93	NB	NB	NB	NB
H4H1742P	60,4	755	115	577	NB	NB	78	144
H4H1745P	164	172	115	231	NB	NB	2,7 (нМ)	4
H4H1750P	15,8*	11550*	8,6 (нМ)	21	NB	NB	NB	NB
H4H1752P	156	197	213	139	NB	NB	NB	NB
H4H1804N	291	51	264	49	NB	NB	321	43
H4H1805N	365	73	342	74	NB	NB	NB	NB
H4H1817N	321	103	356	92	NB	NB	2,5 (нМ)	25
H4H1818N	124	120	119	122	7,1 (нМ)	12	88	92

Таблиця 4

mAb	CHO-експресований TL1A при 37 °C							
	hTL1A K _D (пМ)	hTL1A t _{1/2} (хв.)	MfTL1A K _D (пМ)	MfTL1A t _{1/2} (хв.)	mTL1A K _D (пМ)	mTL1A t _{1/2} (хв.)	rTL1A K _D (пМ)	rTL1A t _{1/2} (хв.)
H4H1681N	254	31	226	32	NB	NB	NB	NB
H4H1704N	1,00*	11550*	0,93*	11550*	1,3 (нМ)	27	46	133
H4H1719P	7,61	1912	2,01	5784	NB	NB	78	86
H4H1725P	23,9	758	17,7	888	NB	NB	411	15
H4H1738P	571	51	465	60	NB	NB	NB	NB
H4H1742P	4,37*	11550*	4,45*	11550*	NB	NB	653	27
H4H1745P	177	129	173	124	NB	NB	16,5 (нМ)	11
H4H1750P	13,8*	11550*	17,1 (нМ)	11	NB	NB	NB	NB
H4H1752P	225	96	223	91	NB	NB	NB	NB
H4H1804N	45,8	286	78	167	NB	NB	127	88
H4H1805N	299	80	352	68	NB	NB	NB	NB
H4H1817N	27,8	1098	25,6	1150	NB	NB	1,6 (нМ)	26
H4H1818N	0,925*	11550*	0,804*	11550*	NB	NB	0,61*	11550*

Таблиця 5

mAb	E. coli-експресований Fhm/TL1A								
	25 °C		37 °C		25 °C		37 °C		25 °C
	Fhm K _D (пМ)	Fhm t _{1/2} (хв.)	Fhm K _D (пМ)	Fhm t _{1/2} (хв.)	MfTL1A K _D (пМ)	MfTL1A t _{1/2} (хв.)	MfTL1A K _D (пМ)	MfTL1A t _{1/2} (хв.)	mTL1A K _D (пМ)**
H2M1681N	NB	NB	NT	NT	546	54	1,5 (нМ)	14	NB
H2M1704N	282	52	NT	NT	285	57	751	16	127 (нМ)
H4H1719P	109	96	174	42	242	79	289	40	NB
H4H1725P	28,9	447	43,6	194	63,7	292	62,2	174	62 (нМ)
H4H1738P	1020	19	3100	4	1360	18	4,2 (нМ)	4	NB
H4H1742P	437	129	696	45	593	97	945	35	NB
H4H1745P	115	226	207	71	141	221	281	74	NB
H4H1750P	204	623	244	335	52,7 (нМ)	4	456 (нМ)	1	NB
H4H1752P	NB	NB	NB	NB	274	122	1320	29	NB
H2M1804N	192	108	NT	NT	176	172	218	118	NB
H2M1805N	NB	NB	NT	NT	345	67	439	36	NB
H2M1817N	451	57	NT	NT	1250	37	1,0 (нМ)	30	NB
H2M1818N	1080	17	NT	NT	1840	10	4,1 (нМ)	3	171 (нМ)

Експеримент 4: Пригнічення TL1A Anti-hTL1A антитілами

- Клітинні лінії HEK293 (CRK01573, ATCC) були створені для того, щоб експресувати людські DR3 (повної довжини; SEQ ID №: 252) або мишачі DR3 (повної довжини; SEQ ID №: 259) разом з люциферазам репортером [NFκB елемент відповіді (5x)-люцифераза-IRES-GFP]. Раніше вже була показана активація NFκB під дією TL1A (Migone et al., 2002, Immunity 16:479-492). Для того, щоб тестувати зв'язану з мембраною форму TL1A і TL1A варіантів, були створені клітинні лінії HEK293, які стабільно експресують людський TL1A повної довжини (SEQ ID №: 244), людський TL1A повної довжини з Gln-167, заміщенням на Arg [Fhm; TL1A(Q167R); SEQ ID №: 246], TL1A повної довжини від яванського макаки, *Macaca fascicularis* (MfTL1A; SEQ ID №: 248), мишачий TL1A повної довжини (SEQ ID №: 250) і щурячий TL1A повної довжини (SEQ ID №: 258). Стабільні клітинні лінії були виділені і підтримувались в 10% ембріональній бичачій сироватці (FBS; Irvine Scientific), мінімальному есенціальному середовищі Ігла, модифікованому за способом Дульбекко (DMEM; Irvine Scientific), замінних амінокислотах (NEAA; Irvine Scientific), пеніциліні/стрептоміцині (Invitrogen) і G418 (Invitrogen).

- Для біопробі людські або мишачі репортерні клітини DR3 засівались на 96-лункові аналітичні планшети в кількості 1×10^4 клітин/лунку в середовище з низьким вмістом сироватки, а саме 0,1% FBS і OPTIMEM® (Invitrogen), і інкубувались при 37 °C і 5% CO₂ впродовж ночі. Наступного дня розчинний TL1A або Fhm (sTL1A або sFhm) серійно розвели 1:3 і додали до клітин в концентрації в межах від 0,002 нМ до 100 нМ (плюс контроль буфера, що не містив TL1A). Для пригнічення антитіла серійно розвели 1:3 і додали до клітин в концентрації в межах від 0,002 нМ до 100 нМ (плюс контроль буфера, що не містив антитіла) в присутності постійних концентрацій TL1A або Fhm: 800 пМ hTL1A (CHO клітинами експресований; залишки 72-251 послідовності SEQ ID №: 244, з N-термінальною His₆-міткою), 100 пМ hTL1A (E. coli-експресований; залишки 72-251 послідовності SEQ ID №: 244, з або без N-термінального Met), 500 пМ Fhm (CHO клітинами експресований; залишки 72-251 послідовності SEQ ID №: 246), 400 пМ MfTL1A (CHO клітинами експресований; залишки 72-251 послідовності SEQ ID №: 248, з N-термінальною His₆-міткою), 400 пМ MfTL1A (E. coli-експресований; залишки 72-251 послідовності SEQ ID №: 248, з або без N-термінального Met), 50 пМ мишачого TL1A (CHO клітинами експресований; залишки 76-252 послідовності SEQ ID №: 250, з N-термінальною His₆-міткою), 20 пМ мишачий TL1A (E. coli-експресований; залишки 76-252 послідовності SEQ ID №: 250, з або без N-термінального Met) і 50 пМ щурячого TL1A (CHO клітинами експресований; залишки 76-252 послідовності SEQ ID №: 258, з N-термінальною His₆-міткою). Активність люциферази визначали після 5,5 годин інкубації при 37 °C і 5% CO₂. Результати наведені в Таблиці 6. Контроль mAb1: Позитивний контроль (анти-hTL1A антитіло з варіабельними доменами важкого і легкого ланцюгів, що має амінокислотні послідовності, які відповідають

послідовностям SEQ ID №№: 21 і 27 за патентною заявкою США 2009/0280116); контроль mAb2: Негативний контроль (невідповідне антитіло); NB: За умов тестування зв'язування відсутнє; NT: Не тестувалось в цій пробі; *: Пригнічення не досягло базового рівня при найвищій концентрації антитіла 100 нМ.

5

Таблиця 6

sTL1A або sFhm	hTL1A (CHO)	hTL1A (E. Coli)	Fhm (CHO)	MfTL1A (CHO)	MfTL1A (E. Coli)	mTL1A (CHO)	mTL1A (E. Coli)	rTL1A (CHO)
EC50 (нМ)	0,63	0,12	0,32	0,86	2,02	0,08	0,01	0,06
Постійна TL1A або Fhm (пМ)	800	100	500	400	400	50	20	50
IC50 [нМ]	H4H1681N	0,17	0,02	NB	0,03	0,02	NB	NB
	H4H1704N	0,13	0,06	0,17	0,01	0,03	NB	NB
	H4H1804N	0,07	0,03	0,10	0,03	0,02	NB	NB
	H4H1805N	0,10	0,04	185,50*	0,03	0,02	NB	NB
	H4H1817N	0,11	0,04	0,12	0,04	0,02	NB	NB
	H4H1818N	0,37	0,29	0,62	0,13	0,06	NB	NB
	H4H1719P	0,06	0,02	0,08	0,01	0,02	NT	NB
	H4H1725P	0,05	0,02	0,07	0,01	0,02	NB	NB
	H4H1738P	0,39	0,16	0,33	0,39	0,07	NT	NB
	H4H1742P	0,31	0,19	0,53	0,26	0,07	NB	NB
	H4H1745P	0,09	0,06	0,15	0,05	0,03	NB	NB
	H4H1750P	0,90	2,17	3,10	154,70	32,47*	NT	NB
	H4H1752P	0,36	0,21	NB	0,12	0,05	NT	NB
	Контроль mAb1	NB	0,74	NB	NB	3,25	NT	NB
	Контроль mAb2	NB	NB	NB	NB	NB	NT	NB

Як показано в Таблиці 6, тринадцять anti-TL1A антитіл пригнічували стимуляцію розчинного людського TL1A (експресованого клітинами CHO і E. coli) людського рецептору DR3, експресованого на клітинах HEK293, як було визначено за допомогою люциферазного репортера для активації NFκB. Антитіло позитивного контролю (контроль mAb1) пригнічувало експресований E. coli hTL1A, але не пригнічувало hTL1A, експресоване клітинами CHO. Десять антитіл також пригнічували стимуляцію клітин, що експресують hDR3, білком Fhm (hTL1A з Q167R). H4H1681N, H4H1805N і H4H1752P не повністю пригнічували Fhm при найвищій концентрації антитіла 100 нМ. Всі тринадцять антитіл також блокували MfTL1A (Таблиця 6).

Мишачий TL1A (отриманий як від CHO, так і від E. coli) стимулював активацію NFκB в репортерних клітинах hDR3; однак жодне з цих 13 анти-людських TL1A антитіл не пригнічувало в цій пробі експресований E. coli мишачий TL1A (Таблиця 6). Дев'ять відібраних антитіл тестувались далі і не продемонстрували блокування експресованого клітинами CHO мишачого TL1A в цій пробі (Таблиця 6).

Для тестування здатності TL1A, експресованого на клітинах, стимулювати передачу сигналів в репортерній системі hDR3 були проведені біологічні проби, як описано вище, на розчинному TL1A з наступними змінами: Адгезивні клітини HEK293/TL1A були дисоційовані за допомогою вільного від ферменту розчину для дисоціації Enzyme-Free Dissociation Solution (Chemicon) і додані до адгезивних репортерних клітин hDR3 після серійного розведення клітин TL1A 1:2, починаючи з 2×10^5 клітин до 195 клітин (плюс безклітинний контроль). Для пригнічення антитілами 1×10^4 клітин додавались разом з серійно розведеними антитілами від 100 нМ до 0,002 нМ (плюс контроль, що не містив антитіла). Результати наведені в Таблиці 7. Контроль mAb1 і mAb2: Такий самий, як у вищенаведеній пробі. NB: За умов тестування зв'язування відсутнє; NT: Не тестувалось в цій пробі; *: Пригнічення не досягло базового рівня при найвищій концентрації антитіла 100 нМ.

Таблиця 7

Зв'язаний з клітинами TL1A або Fhm		HEK293/ hTL1A	HEK293/ Fhm	HEK293/ MfTL1A	HEK293/ mTL1A	HEK293/ rTL1A
EC50 (клітини)		23474	47921	8465	12366	9773
Постійний TL1A/Fhm		10 000 (кількість клітин)				
IC50 [нМ]	H4H1681N	0,66	NB	3,07	NT	NT
	H4H1704N	1,11	1,58	3,76	NB	NT
	H4H1804N	0,56	1,23	2,23	NB	3,99
	H4H1805N	0,82	54,10*	1,93	NB	NB
	H4H1817N	1,11	0,62	5,04	NB	94,96*
	H4H1818N	1,54	1,42	4,29	NT	NT
	H4H1719P	0,82	0,84	3,00	NT	NT
	H4H1725P	0,66	0,94	2,82	NB	190,30*
	H4H1738P	7,47	7,75	20,25	NT	NT
	H4H1742P	6,55	8,39	18,45	NB	NT
	H4H1745P	0,76	2,12	4,28	NT	NT
	H4H1750P	12,82	29,52*	107,40*	NT	NT
	H4H1752P	1,99	138,10*	11,67	NT	NT
	Контроль mAb1	NB	NB	NB	NB	NT
	Контроль mAb2	NB	NB	NB	NB	NB

Як показано в Таблиці 7, всі тринадцять антитіл блокували стимуляцію клітин, що експресують hDR3, експресованим на клітинах hTL1A. Зі зв'язаним з клітинами Fhm всі антитіла пригнічували стимуляцію суттєво, крім H4H1681N, H4H1805N, H4H1750P і H4H1752P, які не демонстрували повного пригнічення при найвищій тестованій концентрації антитіла 100 нМ. Зі зв'язаним з клітинами MfTL1A всі антитіла пригнічували стимуляцію, крім H4H1750, яке не демонструвало повного пригнічення при найвищій тестованій концентрації антитіла 100 нМ. Шість антитіл H4H1704N, H4H1804N, H4H1805N, H4H1817N, H4H1725P і H4H1742P були тестовані у відношенні блокування стимуляції mTL1A поверхні клітини клітин mDR3; і жодне не показало пригнічення. Репортерні клітини, експресуючі мишачий DR3, також могли стимулюватись експресуючими rTL1A клітинами 293 зі спостережуваним EC₅₀ 9773 клітин (Таблиця 7). Чотири антитіла були тестовані у пробі rTL1A/mDR3: три антитіла H4H1804N, H4H1817N, H4H1725P блокували, а антитіло H4H1805N не блокувало стимуляцію клітин mDR3 rTL1A клітинної поверхні (Таблиця 7). Контроль mAb1 блокував стимуляцію експресованими E. coli розчинними hTL1A і MfTL1A клітин hDR3, але був нездатний блокувати CHO-експресовані форми hTL1A і MfTL1A у всіх тестованих умовах (Таблиця 6). Контроль mAb1 також не пригнічував стимуляцію клітин, що експресують hDR3, жодним з експресованих клітинною поверхнею TL1A і Fhm у всіх тестованих умовах (Таблиця 7).

Експеримент 5: Блокування TL1A до рецепторів hDR3 і DcR3 анти-TL1A антитілами

Здатність антитіл блокувати зв'язування людського TL1A з його когнатними рецепторами, рецепторами DR3 і DcR3, оцінювалась з використанням конкурентного імуноферментного сандвіч-аналізу ELISA. Крім того, цим самим способом оцінювалось блокування зв'язування людського TL1A варіанту Fhm (людський TL1A Q167R) і білка TL1A (MfTL1A) яванського макаки (*Macaca fascicularis*) TL1A (MfTL1A) з людськими рецепторами DR3 або DcR3. Постійні кількості біотинільованого людського TL1A або Fhm (обидва експресовані з міткою 6-His в клітинах CHO) або біотинільованого MfTL1A (експресованого в клітинах CHO) окремо титрувались різними кількостями антитіл. Комплекси антитіло-білок інкубувались в розчині (1 година, 25 °C), а потім переносились в титраційні мікропланшети, покриті людським DR3 (hDR3) або людським DcR3 (hDcR3), експресованими як людські злиті білки IgG1 Fc. Через 1 годину при 25 °C лунки промивались, і зв'язаний людський або мавпячий TL1A виявлявся стрептавідином, кон'югованим з пероксидазою хрому (HRP). Лунки проявлялись розчином TMB, щоб дати колориметричну реакцію, і гасились водним розчином сірчаної кислоти перед зчитуванням поглинальної здатності при 450 нм на зчитувальному пристрої для планшет Perkin-Elmer Victor X5. Сигмоїдальну криву доза-реакція було підігнано до цих даних за допомогою програми для аналізу даних Prism™. Обчислене значення IC50, визначене як концентрація антитіла, необхідна для того, щоб блокувати 50% зв'язування TL1A з hDR3 або hDcR3, використовувалось як індикатор активності блокування. І повністю людські анти-hTL1A mAb, і антитіла-компаратори, тобто контрольне mAb1 (анти-hTL1A антитіло з варіабельними

доменами важкого і легкого ланцюгів, що мають амінокислотні послідовності, які відповідають SEQ ID №№: 21 і 27, відповідно, за патентною заявкою США 2009/0280116) і контрольне mAb3 (анти-hTL1A антитіло з варіабельними доменами важкого і легкого ланцюгів, що мають амінокислотні послідовності, які відповідають SEQ ID №№: 57 і 48, відповідно, за патентною заявкою США 2009/0280116), були включені в це дослідження. Результати наведені в Таблиці 8. NB: За умов тестування зв'язування відсутнє; NT: Не тестувалось. Концентрації біотинільованих розчинних лігандів: (1) 150 nM; (2) 500 nM; (3) 10 nM; і (4) 50 nM.

Як показано в Таблиці 8, більшість повністю людських mAb демонструють ефективне блокування взаємодії зв'язування TL1A/hDR3 і TL1A/hDcR3, а кілька показують значення IC₅₀ нижче 50 nM. Два з цих антитіл, H4H1752P і H4H1805N, сильно блокували зв'язування і людського, і мавпячого TL1A до обох hDR3 і hDcR3, але були нездатні блокувати зв'язування Fhm до hDR3 або hDcR3, наводячи на думку, що епітоп зв'язування для цих двох антитіл може включати ділянку біля сайту мутації Fhm (hTL1A з Q167R). Кристалічна структура hTL1A показує, що залишок Q167 знаходиться в межах відкритої до поверхні петлі (Zhan et al., 2009, Biochemistry 48: 7636-7645).

Таблиця 8

mAb ID	hDR3 hTL1A (CHO) ¹ IC ₅₀ (nM)	hDR3 Fhm (CHO) ¹ IC ₅₀ (nM)	hDR3 MfTL1A (CHO) ² IC ₅₀ (nM)	DcR3 hTL1A (CHO) ³ IC ₅₀ (nM)	DcR3 Fhm (CHO) ³ IC ₅₀ (nM)	DcR3 MfTL1A (CHO) ⁴ IC ₅₀ (nM)
H4H1681N	60	>10000	141	17	90	93
H2M1681N	37	>10000	61	13	234	149
H4H1704N	30	44	42	77	170	110
H2M1704N	NT	NT	NT	NT	NT	NT
H4H1719P	22	23	46	44	45	61
H4H1725P	15	18	16	68	85	145
H4H1738P	69	152	117	122	150	68
H4H1742P	64	214	240	181	231	127
H4H1745P	18	44	50	58	85	118
H4H1750P	341	589	5209	656	626	NB
H4H1752P	104	NB	110	31	NB	56
H4H1804N	40	69	71	175	>10000	34
H2M1804N	46	102	81	120	>10000	9
H4H1805N	14	NB	26	33	436	313
H2M1805N	6	NB	13	12	2241	1138
H4H1817N	114	235	101	270	NT	322
H2M1817N	154	249	137	890	666	776
H4H1818N	119	202	123	232	NT	1102
H2M1818N	154	317	239	396	NB	55
Контроль mAb1	>10000	NB	5300	>1000	NT	21000
Контроль mAb3	>10000	NB	17000	8600	NT	NT

Приклад 6: Конкуренція за зв'язування TL1A антитіл на клітинній поверхні з розчинним hTL1A

Клітини 293 людської ембріональної нирки, стабільно трансфіковані для над-експресії hTL1A клітинної поверхні, спочатку забарвлювались в проточно-цитометричному експерименті з вісьмома анти-hTL1A антитілами в чотирьох концентраціях (1; 0,1; 0,01 і 0,003 мкг/мл). Зв'язані людські антитіла виявлялись за допомогою міченого алофікоціаніном козячого F(ab')₂, специфічного до людського Fcγ [або анти-hFcγ-APC F(ab')₂, Jackson ImmunoResearch, # 109-136-170]. Потім в експерименті на конкурентне зв'язування використовувалась найнижча концентрація антитіла, яка забезпечувала суттєві рівні забарвлення. Контрольне антитіло негативного ізо типу (людський IgG4) використовувалось в концентрації 1 мкг/мл для визначення фонових сигналів. Для експерименту на конкурентне зв'язування зразки восьми антитіл в мінімальних концентраціях, ідентифікованих вище, спочатку оброблялись розчинним hTL1A, експресованим з CHO клітин, в концентраціях в межах від 0,03 мкг/мл до 10 мкг/мл. Після

попередньої інкубації впродовж 30 хвилин на льоду суміш антитіло/hTL1A додавалась до клітин 293/HEK-hTL1A, які були виділені центрифугуванням в 96-лунковому конічному планшеті. Після інкубації впродовж додаткових 10 хвилин на льоду клітини промивались. Вторинний реагент, анти-hFcγ-APC F(ab²)₂, додавався до всіх лунок в 200-кратному розведенні, щоб виявити зв'язані антитіла. Зразки інкубувались 15 хвилин на льоду, подалі від світла, після чого промивались. Клітини обробляли на проточному цитометрі BD™ LSR II Flow Cytometer (BD Biosciences), щоб виявити анти-hTL1A антитіла, зв'язані з клітинною поверхнею, і дані аналізувались за допомогою програми FlowJo (версія 8.8.6; Tree Star Inc.). Результати наведені в Таблиці 9. Максимальний сигнал: Зв'язування анти-hTL1A антитіла за відсутності розчинного hTL1A; Мінімальний сигнал: Сигнал, записаний тоді, коли замість анти-hTL1A антитіла було додано 1 мкг/мл ізотопного контрольного антитіла. NT: Не тестувалось.

Таблиця 9

	Середня інтенсивність флуоресценції для зв'язування анти-hTL1A антитіл (H4H) до клітинної поверхні hTL1A							
Розчинний hTL1A (мкг/мл)	1704N	1725P	1742P	1804N	1805N	1817N	1681N	1745P
	0.1 мкг/мл	0.1 мкг/мл	1 мкг/мл	0.1 мкг/мл	0.1 мкг/мл	1 мкг/мл	1 мкг/мл	1 мкг/мл
10	NT	NT	NT	NT	NT	NT	16,9	15
3	22,6	34,9	19,9	28,9	23,6	25,2	28,5	19,5
1	26	29,2	32,7	33,7	25,1	29,1	80,9	26,9
0,3	31,5	40,7	44,7	33,5	36,8	23,6	236	115
0,1	132	84,5	79,4	51,1	60,2	97,2	327	93,1
0,03	163	207	126	126	156	85,3	318	80
Максимальний сигнал	116	211	126	127	158	110	320	87,2
Мінімальний сигнал	27,5	27,5	27,5	27,5	27,5	27,5	17,9	17,9

Як показано в Таблиці 9, сигнали від восьми тестованих антитіл можуть бути знижені до базових рівнів шляхом додавання надлишку розчинного hTL1A, демонструючи специфічність зв'язування цих антитіл до hTL1A клітинної поверхні.

Приклад 7: Блокування залежної від hTL1A стимуляції CD4⁺T-клітин анти-TL1A антитілами

Щоб визначити здатність анти-hTL1A антитіл блокувати hTL1A-залежну стимуляцію людських CD4⁺T-клітин, було розроблено пробу in vitro, в якій hTL1A/анти-CD3/анти-CD28-стимульоване вивільнення IFN-гамма (IFN-γ) оцінювалось в присутності або відсутності антитіл. Людські CD4⁺T-клітини були виділені зі свіжих лейкоцитарних плівок, приготовлених зі зразків крові людини, отриманих з Центру крові Нью-Йорка. Клітини від одного донора тримали окремо від клітин інших донорів для кожної проби. CD4⁺T-клітини додавались до лунок 96-лункового планшета в кількості $3,5 \times 10^5$ клітин на лунку. До кожної лунки потім додали розчинний hTL1A (залишки 72-251 NP_005109.2 з N-термінальною гекса-гістидиновою міткою, експресовані клітинами CHO) до кінцевої концентрації 1 мкг/мл (16 nM, в припущенні утворення hTL1A тримерів у розчині) в RPMI+10 % FBS, L-глутаміні і пеніциліні/стрептоміцині. До кожної лунки додали також анти-hTL1A антитіла або ізотипне контрольне антитіло до кінцевої концентрації 1,0 мкг/мл або 3,0 мкг/мл (6,7 nM або 20 nM, відповідно). Зразки інкубували впродовж 15 хвилин при 4°C в темряві, після чого до кожної лунки додали анти-hCD3 (BD Pharmingen, cat # 555336) і анти-hCD28 (BD Pharmingen, cat # 555725) до кінцевої концентрації 1,0 мкг/мл. Зразки інкубували впродовж 24 годин при 37°C, супернатанти збирали і визначали рівні IFN-γ за допомогою ELISA. Блокуючий ефект (середній з двох окремих лунок для кожних умов) кожного антитіла у відношенні кожного людського донорського зразка CD4⁺T-клітин є представленим як зменшення від максимального сигналу, поділене на максимальне вікно реакції; тобто % Блокування = [(Max-Inhib)/(Max-Min)] × 100, де "Max", "Inhib", і "Min" – це концентрації IFN-γ, визначені для оброблених CD4⁺ людських T-клітин наступним чином: "Max" – оброблені [hTL1A + анти-hCD3 + анти-hCD28 + ізотипне контрольне mAb]; "Min": " – оброблені [анти-hCD3 + анти-hCD28 + ізотипне контрольне mAb]; і "Inhib" – оброблені [hTL1A + анти-hCD3 + анти-hCD28 + анти-hTL1A тестове mAb]. Антитіла, для яких блокада IFN-γ перевищувала "Min" базовий рівень, є представленими як 100 % блокада. Відношення (Max/Min) – це відношення

концентрації IFN- γ , отриманого з людських CD4⁺T-клітин, оброблених за Max і Min умов, як визначено вище.

- 5 Як показано в Таблиці 10, антитіла H4H1725P, H4H1805N, H4H1817N і H4H1804N суттєво блокували стимульоване hTL1A вивільнення IFN- γ при обох концентраціях 1 мкг/мл і 3 мкг/мл, причому майже повна блокада (>80 %) спостерігалась для більшості донорів при підвищеній концентрації антитіла. Результати щодо блокади секреції IFN- γ тринадцятьма різними анти-hTL1A антитілами проти CD4⁺T-клітин від 10 різних людських донорів підсумовані в Таблиці 11. SD: Стандартне відхилення.

Таблиця 10

mAb ID	Донор № Відношення (Max/Min)	% блокування продукції IFN- γ в людських T-клітинах від 10 донорів									
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
		5	4	10	10	4	3	4	3	8	2
H4H1725P	mAb 1 μ g/ml (6.7 nM)	90	100	70	85	45	80	60	85	50	95
H4H1805N		100	100	90	100	100	100	100	100	90	100
H4H1817N		100	100	90	90	100	45	55	100	55	80
H4H1804N		95	100	80	90	100	50	10	100	50	0
H4H1725P	mAb 3 μ g/ml (20 nM)	95	100	95	100	90	80	90	100	90	100
H4H1805N		100	100	95	100	80	100	100	100	70	100
H4H1817N		100	100	100	100	100	100	100	100	95	85
H4H1804N		100	100	95	100	100	100	100	100	100	80

10

Таблиця 11

mAb ID	Середній % блокування (SD) 0,1 мкг/мл mAb	Середній % блокування (SD) 1 мкг/мл mAb	Середній % блокування (SD) 3 мкг/мл mAb
H4H1681N	20 % (24)	45 % (30)	95 % (7)
H4H1704N	22 % (29)	53 % (27)	98 % (5)
H4H1719P	10 % (22)	37 % (23)	78 % (30)
H4H1725P	13 % (14)	80 % (20)	94 % (7)
H4H1738P	25 % (30)	41 % (35)	81 % (18)
H4H1742P	10 % (22)	58 % (33)	83 % (16)
H4H1745P	22 % (27)	36 % (36)	91 % (7)
H4H1750P	11 % (14)	42 % (35)	89 % (15)
H4H1752P	18 % (25)	52 % (35)	71 % (30)
H4H1804N	26 % (30)	68 % (38)	98 % (6)
H4H1805N	21 % (28)	98 % (4)	94 % (10)
H4H1817N	25 % (33)	81 % (22)	98 % (5)
H4H1818N	25 % (33)	42 % (33)	71 % (35)
Ізотипний контроль	16 % (21)	26 % (33)	28 % (27)

15

Рівні IFN- γ були визначені також при шести різних концентраціях антитіла (в межах від 0,03 мкг/мл до 10 мкг/мл) для кожного з шести різних антитіл, доданих до CD4⁺T-клітин від дванадцяти людських донорів. Підгонка кривої до цих даних забезпечила оцінку концентрації антитіла, при якій досягалась половина максимального пригнічення для кожного антитіла для кожного зразка донорських клітин. Середні (\pm SD) концентрації для досягнення половини максимального пригнічення наведені в Таблиці 12.

Таблиця 12

Донор №	mAb IC ₅₀ (нМ)					
	H4H1725P	H4H1742P	H4H1805N	H4H1817N	H4H1804N	H4H1704N
D1	3,4	24	2,4	6,6	6,8	-
D2	3,2	4,6	5,5	3,1	8,6	-
D3	5,4	10	3,4	4,7	8,6	-
D4	4,7	13	2,5	2,4	7,7	-
D5	7,0	12	2,9	8,5	6,7	17
D6	5,4	10	3,4	4,7	8,6	11
D7	13	31	8,0	7,0	12	12
D8	12	27	5,1	7,0	11	19
D9	6,4	56	5,9	9,5	8,1	7,5
D10	4,1	12	2,8	7,3	12	10
D11	6,1	27	3,0	7,3	7,6	11
D12	6,4	14	3,1	9,4	7,5	8,0
Середня (± SD)	6,4 (3,1)	20 (14)	4,0 (1,7)	6,5 (2,3)	8,8 (1,9)	12 (4,1)

Чотири антитіла H4H1725P, H4H1804N, H4H1805N і H4H1817N демонстрували середні концентрації півмаксимального пригнічення, нижчі за 10 нМ (в межах приблизно від 4 до 9 нМ).

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> РЕДЖЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ІНК.

<120> Людські антитіла до людського, подібного до TNF ліганду 1A (TL1A)

<130> 6400A-WO

<140> Буде переуступлений

<141> 2011-11-08

<150> 61/411,276

<151> 2010-11-08

<150> 61/478,309

<151> 2011-04-22

<160> 259

<170> FastSEQ для версії 4.0 Windows

<210> 1

<211> 366

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 1

```

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag tctctggatt cacctttagt agttattgga tgagctgggt ccgccagget 120
ccagggaagg ggctggaatg ggtggccaac ataaaggaag atggaagtga gaaaaactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccctc tccagcgaca acgccaagaa ctactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gagagaggac 300
tatgactcct actacaagta cggtatggac gtttggggcc aaggggaccgc ggatcatcgc 360
tcctca 366

```

<210> 2

<211> 122

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 2

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20          25          30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35          40          45
Ala Asn Ile Lys Glu Asp Gly Ser Glu Lys Asn Tyr Val Asp Ser Val
 50          55          60
Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65          70          75          80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85          90          95
Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Ser Tyr Tyr Lys Tyr Gly Met Asp Val Trp
100          105          110
Gly Gln Gly Thr Ala Val Ile Val Ser Ser
115          120

```

<210> 3

<211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 3
 ggattcacct ttagtagtta ttgg 24

 <210> 4
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 4
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp
 1 5

 <210> 5
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 5
 ataaaggaag atggaagtga gaaa 24

 <210> 6
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 6
 Ile Lys Glu Asp Gly Ser Glu Lys
 1 5

 <210> 7
 <211> 45
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 7
 gcsagagagg actatgactc ctactacaag tacggtatgg acgtt 45

 <210> 8
 <211> 15
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 8

Ala Arg Glu Asp Tyr Asp Ser Tyr Tyr Lys Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 9
<211> 339
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетична

<400> 9
gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtatttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120
tggtatcagc agaaaccagg acagcctcct aagctgtcga ttactgggc atctaccgg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg gaacagattt cactctcacc 240
atcagcagcc tgcaggctga agatgtgtca gtttattact gtcaacaata ttatagtact 300
ccattcaatt tcggccctgg gaccaaagtg gatatcaaa 339

<210> 10
<211> 113
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетична

<400> 10
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ser Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile
100 105 110
Lys

<210> 11
<211> 36
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетична

<400> 11
cagagtattt tatacagctc caacaataag aactac 36

<210> 12
<211> 12
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетична

<400> 12
Gln Ser Ile Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 13
 <211> 9
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Синтетична

<400> 13
 tgggcatct

9

<210> 14
 <211> 3
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Синтетична

<400> 14
 Trp Ala Ser
 1

<210> 15
 <211> 27
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 15
 caacaatatt atagtactcc attcact

27

<210> 16
 <211> 9
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 16
 Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
 1 5

<210> 17
 <211> 363
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 17
 gaggtgcaac tattggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggaagtc ccttagactc 60
 tcctgtgcag tctctggatt cacctttagt acctatggca tgaattgggt cgcgcaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaagt attagtggta ctggtcgtac cacataccat 180
 gcagactccg tgcagggccg gttcaccgtc tccagagaca attccaagaa cattctatat 240
 ttacagatga acagtctgcg agccgacgac acggccgtat atttctgtac gaaagagcgg 300
 ggagattact actacggggg ttttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
 tca 363

<210> 18
 <211> 121
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 18
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Lys
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Gly Thr Gly Arg Thr Thr Tyr His Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Gln Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95
 Thr Lys Glu Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Val Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 19
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 19
 ggattcacct ttagtaccta tggc

24

<210> 20
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Синтетична

<400> 20
 Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly
 1 5

<210> 21
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Синтетична

<400> 21
 attagtggta ctggtcgtac caca

24

<210> 22
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність
 <220>

<223> Синтетична

<400> 22

Ile Ser Gly Thr Gly Arg Thr Thr
1 5

<210> 23

<211> 42

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 23

acgaaagagc ggggagatta ctactacggg gtttttgact ac 42

<210> 24

<211> 14

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 24

Thr Lys Glu Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Val Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 25

<211> 318

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 25

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtc gactattagt tcctgggtgg cctgggtatca gcagacacca 120
gagaaagccc ctaagctcct gatctatgcg gcgtctaatt tacaaagtgg agtcccatca 180
aggttcagcg gcagtgatc tgggacagaa ttcaactatca ccatcagcag cctacagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccagcag tatcatcggt cttggacggt cggccaaggg 300
accaaggtgg aaatcaca 318

<210> 26

<211> 106

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 26

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Thr Ile Ser Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Glu Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His Arg Ser Trp Thr
85 90 95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Thr
100 105

```
<210> 27
<211> 18
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
```

<220>
<223> Синтетична

<400> 27
cagactatta gttcctgg 18

```
<210> 28
<211> 6
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність
```

<220>
<223> Синтетична

<400> 28
Gln Thr Ile Ser Ser Trp
1 5

```
<210> 29
<211> 9
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
```

<220>
<223> Синтетична

<400> 29
gcggcgctct 9

```
<210> 30
<211> 3
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність
```

<220>
<223> Синтетична

<400> 30
Ala Ala Ser
1

```
<210> 31
<211> 24
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
```

<220>
<223> Синтетична

<400> 31
cagcagtatc atcgttcttg gacg 24

<210> 32

<211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 32
 Gln Gln Tyr His Arg Ser Trp Thr
 1 5

<210> 33
 <211> 351
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 33
 cagggtgcagc tacaccagtg gggcgcagga ctgttgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
 acctgcgctg tctctggtgt gtccttcagt gattatcact gggcctggat ccgccagtcc 120
 ccagggaagg ggctggagtg gattggggat atcaatcatc gtggaaggac caactacaac 180
 ccgtccctca agagtcgagt caccatatca cttgacacgt ccgggaaccc gttctccctg 240
 aagctgacct ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtttatt actgtgagag agattttccc 300
 aactgggttt ttgactcctg gggccaggga atcctagtca ccgtctcctc a 351

<210> 34
 <211> 117
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 34
 Gln Val Gln Leu His Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Val Ser Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 His Trp Ala Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asp Ile Asn His Arg Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Gly Asn Pro Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 Lys Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Asp Phe Pro Asn Trp Val Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Ile Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 35
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 35
 ggtgtgtcct tcagtgatta tcac

<210> 36
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 36
 Gly Val Ser Phe Ser Asp Tyr His
 1 5

<210> 37
 <211> 21
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 37
 atcaatcatc gtggaaggac c 21

<210> 38
 <211> 7
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 38
 Ile Asn His Arg Gly Arg Thr
 1 5

<210> 39
 <211> 33
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 39
 gcgagagatt ttcccaactg ggtttttgac tcc 33

<210> 40
 <211> 11
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 40
 Ala Arg Asp Phe Pro Asn Trp Val Phe Asp Ser
 1 5 10

<210> 41
 <211> 324
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 41

```

gaaattgtat tgtcgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagcttct tagcctggta ccaacaatat 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gaagggccac tggcatccca 180
gacaggttcc gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcaa caatatggta gttcaccgct caccttcggc 300
ggagggacca aggtggagaa caaa                                     324

```

<210> 42

<211> 108

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 42

```

Glu Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1           5           10           15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20           25           30
Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Tyr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35           40           45
Ile Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Arg
50           55           60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65           70           75           80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85           90           95
Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Asn Lys
100          105

```

<210> 43

<211> 21

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 43

cagagtgtta gcagcagctt c

21

<210> 44

<211> 7

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 44

```

Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe
1           5

```

<210> 45

<211> 9

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 45
ggtgcatcc

9

<210> 46
<211> 3
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 46
Gly Ala Ser
1

<210> 47
<211> 27
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 47
саасаататг gtagttcacc gtcacc

27

<210> 48
<211> 9
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 48
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 49
<211> 357
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 49
caggtgcagc tacagcagtg gggcgagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctatgggtg gtccttcact ggtttctact ggagctggat ccgccagccc 120
cccggaaggg ggctggagtg gattggggaa atcaatcatc gtggaaacac caactacaat 180
ccgtccctca agagtcgagt caccatgtca gtagacacgt ccaagaacca gttctccctg 240
aacatgatct ctgtgaccgc cgcggacacg gctatgtatt tctgtgcgag tcctttttac 300
gatttttgga gtggttccga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctca 357

<210> 50
<211> 119
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 50

```

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
 1          5          10          15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Thr Gly Phe
 20          25          30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35          40          45
Gly Glu Ile Asn His Arg Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50          55          60
Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65          70          75          80
Asn Met Ile Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Met Tyr Phe Cys Ala
 85          90          95
Ser Pro Phe Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100          105          110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

```

<210> 51

<211> 24

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 51

ggtgggtcct tcactgggtt ctac

24

<210> 52

<211> 8

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 52

```

Gly Gly Ser Phe Thr Gly Phe Tyr
 1          5

```

<210> 53

<211> 21

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 53

atcaatcatc gtggaacac c

21

<210> 54

<211> 7

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 54

```

Ile Asn His Arg Gly Asn Thr
 1          5

```

<210> 55
 <211> 39
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 55
 gcgagtcctt tttagcattt ttggagtggg tccgactac 39

<210> 56
 <211> 13
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 56
 Ala Ser Pro Phe Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Ser Asp Tyr
 1 5 10

<210> 57
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 57
 gacattatgt tgacccagac tccactcacc tcacctgtca cccttgggca gccggcctcc 60
 atctcctgca agtctagtca aagcctcgta cacagtgatg gaaacaccta cttgagttgg 120
 cttcagcaga ggccaggcca gcctccaaga ctctatttt ataagatttc taaccgggtc 180
 tctggagtcc cagacagatt cagtggcagt ggggcaggga cagatttcac actgaaaatc 240
 agcagggtgg aagctgagga tgtcggggtt tattactgca tgcaagctac acaatttcct 300
 ctcaactttcg gcggagggac caaggtagag atcaaa 336

<210> 58
 <211> 112
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 58
 Asp Ile Met Leu Thr Gln Thr Pro Leu Thr Ser Pro Val Thr Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30
 Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
 35 40 45
 Pro Arg Leu Leu Phe Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Thr Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 59
 <211> 33
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 59
 caaagcctcg tacacagtga tggaacacc tac

33

<210> 60
 <211> 11
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 60
 Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
 1 5 10

<210> 61
 <211> 9
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 61
 aagatttct

9

<210> 62
 <211> 3
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 62
 Lys Ile Ser
 1

<210> 63
 <211> 27
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 63
 atgcaagcta cacaatttcc tctcact

27

<210> 64
 <211> 9
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 64

Met Gln Ala Thr Gln Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 65

<211> 351

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 65

```
caggtgcaac tacaacagtg gggcgagga ctgttgaagc cctcggagac cctgtccctc 60
acctgcgctg tctctgggtg gtccttcagt gattacttct ggacctggat ccgccagccc 120
cccgggaagg ggctggagtg gattggggaa atcagtcata gtggaagaac caactacaac 180
ccgtccctca agagtcgagt caccatatca gttgacacgt ccatgagcca gttctccctg 240
aagatgacct ctgtgaccgc cgcggactcg gctgtatatt actgtgcgag agattatccc 300
aactgggttt ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctctc a 351
```

<210> 66

<211> 117

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 66

```
Gln Val Gln Leu Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Phe Trp Thr Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Glu Ile Ser His Ser Gly Arg Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Met Ser Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Met Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Asp Tyr Pro Asn Trp Val Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115
```

<210> 67

<211> 24

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 67

ggtgggtcct tcagtgatta cttc

24

<210> 68

<211> 8

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 68

Gly Gly Ser Phe Ser Asp Tyr Phe
1 5

<210> 69

<211> 21

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 69

atcagtcata gtggaagaac c 21

<210> 70

<211> 7

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 70

Ile Ser His Ser Gly Arg Thr
1 5

<210> 71

<211> 33

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 71

gcgagagatt atcccaactg gggttttgac tac 33

<210> 72

<211> 11

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 72

Ala Arg Asp Tyr Pro Asn Trp Val Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 73

<211> 324

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 73

gaaattgagt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aggagccacc 60
ctctctctgca gggccagtc gagtggtttc aacagctact tagcgtggta ccagcagaaa 120


```
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca ggagggccac tggcatccct 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctggagatt ttgcagtata tttctgtcag cagtatggta actcaccgct cactttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaaa 324
```

<210> 74
 <211> 108
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 74
 Glu Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Gly Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Phe Asn Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Gly Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Pro
 85 90 95
 Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 75
 <211> 21
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 75
 cagagtgttt tcaacagcta c 21

<210> 76
 <211> 7
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 76
 Gln Ser Val Phe Asn Ser Tyr
 1 5

<210> 77
 <211> 9
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 77
 ggtgcatcc 9

<210> 78

<211> 3
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 78
 Gly Ala Ser
 1

<210> 79
 <211> 27
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 79
 cagcagtatg gtaactcacc gctcact

27

<210> 80
 <211> 9
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 80
 Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Pro Leu Thr
 1 5

<210> 81
 <211> 366
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 81
 cgggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgaaactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt caccatcagt gactactaca tgagctggat ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtttcgtac attggtggta gtggtagtac catatattac 180
 gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctcaactgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gagagaggac 300
 gctgactcct actactacta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
 tcctca 366

<210> 82
 <211> 122
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 82
 Arg Leu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ile Ser Asp Tyr
 20 25 30

```

Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35              40              45
Ser Tyr Ile Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
      50              55              60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65              70              75              80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85              90              95
Ala Arg Glu Asp Ala Asp Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
      100             105             110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
      115             120

```

<210> 83
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 83
 ggattcacca tcagtgacta ctac 24

<210> 84
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 84
 Gly Phe Thr Ile Ser Asp Tyr Tyr
 1 5

<210> 85
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 85
 attggtggta gtggtagtag cata 24

<210> 86
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 86
 Ile Gly Gly Ser Gly Ser Thr Ile
 1 5

<210> 87
 <211> 45
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 87

gcgagagagg acgctgactc ctactactac tacggatatgg acgtc

45

<210> 88

<211> 15

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 88

Ala	Arg	Glu	Asp	Ala	Asp	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val
1				5					10				15	

<210> 89

<211> 339

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 89

gatattgtga	tgaccagtc	tccagactcc	ctggctgtgt	ctctgggcga	gagggccacc	60
atcaactgca	agtcagcca	gagtgtttta	tacagctcca	acaataagaa	ccacttatct	120
tggtatcagc	agaaaccagg	acagcctcct	aagctgctca	tttactgggc	atctaccg	180
gaatccgggg	tccctgaccg	attcagtggc	agcgggtctg	ggacagattt	cactctcacc	240
atcagcagcc	tgcaggctga	agatgtggca	gtttattact	gtcaacaata	ttatagtact	300
cctcggacgt	tcggccaagg	gaccaaggtg	gaaatcaaa			339

<210> 90

<211> 113

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 90

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Gly
1				5					10				15		
Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Val	Leu	Tyr	Ser
			20					25					30		
Ser	Asn	Asn	Lys	Asn	His	Leu	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln
			35				40					45			
Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser	Gly	Val
			50			55					60				
Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr
			65		70				75					80	
Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ala	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln
				85					90					95	
Tyr	Tyr	Ser	Thr	Pro	Arg	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile
			100					105					110		
Lys															

<210> 91

<211> 36

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 91
cagagtgttt tatacagctc caacaataag aaccac 36

<210> 92
<211> 12
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 92
Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn His
1 5 10

<210> 93
<211> 9
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 93
tgggcatct 9

<210> 94
<211> 3
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 94
Trp Ala Ser
1

<210> 95
<211> 27
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 95
caacaatatt atagtactcc tcggacg 27

<210> 96
<211> 9
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 96
Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Arg Thr

1

5

<210> 97

<211> 366

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 97

```

gaagtgcaac tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggatt cacctttcaa gattatgcc tgcactgggt ccggcaagct 120
ccaggaaagg gcctggagtg ggtctcagg attaatgga ttagtgatga catgggctat 180
gcggaactctg tgatgggccc attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatgg acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagataag 300
ggattacgat ttttggacta tggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcacccgc 360
tcctca

```

<210> 98

<211> 122

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 98

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gln Asp Tyr
20          25          30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35          40          45
Ser Gly Ile Asn Trp Ile Ser Asp Asp Met Gly Tyr Ala Asp Ser Val
50          55          60
Met Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65          70          75          80
Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85          90          95
Ala Lys Asp Lys Gly Leu Arg Phe Leu Asp Tyr Val Met Asp Val Trp
100          105          110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115          120

```

<210> 99

<211> 24

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 99

ggattcacct ttcaagatta tgcc

24

<210> 100

<211> 8

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 100
Gly Phe Thr Phe Gln Asp Tyr Ala
1 5

<210> 101
<211> 24
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 101
attaattgga ttagtgatga catg 24

<210> 102
<211> 8
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 102
Ile Asn Trp Ile Ser Asp Asp Met
1 5

<210> 103
<211> 45
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 103
gcaaaagata agggattacg atttttggac tatgttatgg acgtc 45

<210> 104
<211> 15
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 104
Ala Lys Asp Lys Gly Leu Arg Phe Leu Asp Tyr Val Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 105
<211> 339
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 105
gacatccagt tgacccagtc tcctctctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
atctctctgca ggtctactca gagcctcctg cataggaatg gccacaacta ttgcatgg 120
tacctacata agccagggca gtctccacaa ctctgattc atctgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240

agcagagtgg aggctgagga tgttggggtc tattactgca tgcaagctct acagactccg 300
tacacttttg gccaggggac caaggtggag atcaaacga 339

<210> 106
<211> 113
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 106
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Thr Gln Ser Leu Leu His Arg
20 25 30
Asn Gly His Asn Tyr Leu His Trp Tyr Leu His Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile His Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95
Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110
Arg

<210> 107
<211> 33
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 107
cagagcctcc tgcataggaa tggccacaac tat 33

<210> 108
<211> 11
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетична

<400> 108
Gln Ser Leu Leu His Arg Asn Gly His Asn Tyr
1 5 10

<210> 109
<211> 9
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 109
ctgggttct 9

<210> 110
<211> 3

<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 110
Leu Gly Ser
1

<210> 111
<211> 27
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 111
atgcaagctc tacagactcc gtacact 27

<210> 112
<211> 9
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 112
Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 113
<211> 363
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 113
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgtag cctctggatt cacccttcaa gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccaggaaaagg gcctggagtg ggtctcaggt attaatgga ttagtgatga catgggctat 180
gcggactctg tgatgggccc attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaatgg acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagataag 300
ggattacgat ttttggacta tgttatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tcc 363

<210> 114
<211> 121
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 114
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gln Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

```

      35          40          45
Ser Gly Ile Asn Trp Ile Ser Asp Asp Met Gly Tyr Ala Asp Ser Val
      50          55          60
Met Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
      65          70          75          80
Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
      85          90          95
Ala Lys Asp Lys Gly Leu Arg Phe Leu Asp Tyr Val Met Asp Val Trp
      100          105          110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
      115          120

```

<210> 115
 <211> 336
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

```

<400> 115
gacatcgtga tgaccagtc tcctctctcc ctgcccgtea cccctggaga gccggcctcc 60
atctcttgca ggtctactca gagcctcctg cataggaatg gccacaacta ttgcatgg 120
tacctacata agccagggca gtctccacaa ctcttgattc atctgggttc taatcgggcc 180
tccgggggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tggtggggtc tattactgca tgcaagctct acagactccg 300
tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaaa 336

```

<210> 116
 <211> 112
 <212> РЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

```

<400> 116
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
      1          5          10          15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Thr Gln Ser Leu Leu His Arg
      20          25          30
Asn Gly His Asn Tyr Leu His Trp Tyr Leu His Lys Pro Gly Gln Ser
      35          40          45
Pro Gln Leu Leu Ile His Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
      50          55          60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
      65          70          75          80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
      85          90          95
Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
      100          105          110

```

<210> 117
 <211> 354
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

```

<400> 117
caggtgcagc tgggtggagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaaaccta aaagtgggtg cacaaactat 180

```

gtacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcaa cacagcctac 240
atggaactaa acaatctgaa atctgacgac acggccgttt attactgtgc gactggaggg 300
agtcaagatg ctctcgattt ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 118
<211> 118
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетична

<400> 118
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Lys Pro Lys Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Val Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Asn Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Thr Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ser Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 119
<211> 24
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетична

<400> 119
ggatacacct tcaccggcta ctat 24

<210> 120
<211> 8
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетична

<400> 120
Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr
1 5

<210> 121
<211> 24
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетична

<400> 121
atcaaaccta aaagtgggtgg caca 24

<210> 122

<211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 122
 Ile Lys Pro Lys Ser Gly Gly Thr
 1 5

<210> 123
 <211> 33
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 123
 gcgactggag ggagtcaaga tgcttctgat ttc 33

<210> 124
 <211> 11
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 124
 Ala Thr Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ser Asp Phe
 1 5 10

<210> 125
 <211> 324
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 125
 gacatccagt tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggagg cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtca ggatattagc atctgggttag cctgggtatca acagaaacca 120
 gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctgacagtt tcccgtcac tttcggcggt 300
 gggaccaagc tggagatcaa acga 324

<210> 126
 <211> 108
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 126
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Gly Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ile Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile

```

          35          40          45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
   50          55          60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65          70          75          80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asp Ser Phe Pro Leu
          85          90          95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
          100          105

```

<210> 127
 <211> 18
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 127
 caggatatta gcatctgg 18

<210> 128
 <211> 6
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 128
 Gln Asp Ile Ser Ile Trp
 1 5

<210> 129
 <211> 9
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 129
 gctgcatcc 9

<210> 130
 <211> 3
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 130
 Ala Ala Ser
 1

<210> 131
 <211> 27
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 131
caacaggctg acagtttccc gctcact

27

<210> 132
<211> 9
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 132
Gln Gln Ala Asp Ser Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 133
<211> 354
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 133
caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcttgcaagg cttctggata caccttcacc ggctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaaacctt aaagtgggtg cacaactat 180
gtacagaagt ttcagggcag ggtcaccatg accagggaca cgtccatcaa cacagcctac 240
atggaactaa acaatctgaa atctgacgac acggccggtt attactgtgc gactggaggg 300
agtcaagatg cttctgattt ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 134
<211> 118
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 134
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Lys Pro Lys Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Val Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Asn Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Thr Gly Gly Ser Gln Asp Ala Ser Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 135
<211> 321
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 135

```
gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggagg cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc ggatattagc atctgggttag cctgggtatca acagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctatgct gcatccagtt tacaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctgacagtt tcccgtcac tttcggcggt 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321
```

<210> 136

<211> 107

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 136

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Gly Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ile Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asp Ser Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
```

<210> 137

<211> 378

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 137

```
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagcc ttggtaaagc ctgggggggc ccttagactc 60
tcctgtgcag tctctggatt cactttcatt aatgactgga tgaactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggaatg ggttgccgt attaaaagca caactgatgg tgggacaaca 180
gacgacgctg caccctgaa aggcagattc accatctcaa gagatgactc aaaaaacacg 240
ctatatctgc aaatgaatag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaga 300
gataggaacc gacagagaaa ttacttctat gacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctcctca 378
```

<210> 138

<211> 126

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 138

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Ile Asn Asp
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
```

	35		40		45	
Gly	Arg	Ile	Lys	Ser	Thr	Thr
	50		55		60	
Pro	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr
65			70		75	
Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser
			85		90	
Tyr	Cys	Thr	Arg	Asp	Arg	Asn
			100		105	
Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly
			115		120	

<210> 139
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 139
 ggattcactt tcattaatga ctgg 24

<210> 140
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 140
 Gly Phe Thr Phe Ile Asn Asp Trp
 1 5

<210> 141
 <211> 30
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 141
 attaaaagca caactgatgg tgggacaaca 30

<210> 142
 <211> 10
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 142
 Ile Lys Ser Thr Thr Asp Gly Gly Thr Thr
 1 5 10

<210> 143
 <211> 51
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 143

accagagata ggaaccgaca gagaattac ttctatgacg gtatggacgt c 51

<210> 144

<211> 17

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 144

Thr	Arg	Asp	Arg	Asn	Arg	Gln	Arg	Asn	Tyr	Phe	Tyr	Asp	Gly	Met	Asp
1				5					10					15	
Val															

<210> 145

<211> 339

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 145

gacatccagt	tgaccacagtc	tccagtctcc	ctgcccgtca	cccctggaga	gccggcctcc	60
atctcctgca	ggctcagtc	gaggctcctg	cataataatg	gaaacaacta	tttggattgg	120
tacctgcaga	agccagggca	gtctccacaa	ctcctgatct	atttgggctc	taatcgggcc	180
tccgggggtcc	ctgacaggtt	cagtggcagt	ggatcaggca	cagatttcac	actgaaagtc	240
agtagagtgg	aggctgagga	tggtgggggt	tattactgca	tgcaagctct	acaaactccg	300
tacacttttg	gccaggggac	caagctggag	atcaaacga			339

<210> 146

<211> 113

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 146

Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Val	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Arg	Leu	Leu	His	Asn
			20					25					30		
Asn	Gly	Asn	Asn	Tyr	Leu	Asp	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
			35				40					45			
Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Leu	Gly	Ser	Asn	Arg	Ala	Ser	Gly	Val	Pro
			50			55					60				
Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Val
65				70					75					80	
Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Met	Gln	Ala
			85					90					95		
Leu	Gln	Thr	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
			100				105						110		
Arg															

<210> 147

<211> 33

<212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 147
 cagaggctcc tgcataataa tggaacaac tat 33

 <210> 148
 <211> 11
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 148
 Gln Arg Leu Leu His Asn Asn Gly Asn Asn Tyr
 1 5 10

 <210> 149
 <211> 9
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 149
 ttgggctct 9

 <210> 150
 <211> 3
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 150
 Leu Gly Ser
 1

 <210> 151
 <211> 27
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 151
 atgcaagctc tacaactcc gtacact 27

 <210> 152
 <211> 9
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 152

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 153
<211> 375
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 153
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggagcc ttggtaaagc ctgggggggtc ccttagactc 60
tcctgtgcag tctctggatt cactttcatt aatgactgga tgaactgggt cgcagggt 120
ccagggaagg ggctggaatg gggtggccgt attaaaagca caactgatgg tgggacaaca 180
gacgacgctg caccogtgaa aggcagattc accatctcaa gagatgactc aaaaaacacg 240
ctatatctgc aaatgaatag cctgaaaacc gaggacacag ccgtgtatta ctgtaccaga 300
gataggaacc gacagagaaa ttacttctat gacggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctcc 375

<210> 154
<211> 125
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 154
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Ile Asn Asp
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Arg Ile Lys Ser Thr Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Asp Ala Ala
50 55 60
Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Thr Arg Asp Arg Asn Arg Gln Arg Asn Tyr Phe Tyr Asp Gly
100 105 110
Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
115 120 125

<210> 155
<211> 336
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 155
gacatcgtga tgacccagtc tccagtctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtc gaggtcctg cataataatg gaaacaacta ttggattgg 120
tacctgcaga agccagggca gtctccacaa ctctgatct atttgggtc taatcgggcc 180
tccggggctc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagatttcac actgaaagtc 240
agtagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaaactccg 300
tacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 156
<211> 112

<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 156
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Val Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Arg Leu Leu His Asn
20 25 30
Asn Gly Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Val
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95
Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 157
<211> 351
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 157
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccctttagc agttatgccca tgacctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggcttgagtg ggtctcaggt gtaagtggaa gaggtggtag tacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
cttcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gtattgggat 300
atcagctcgt ttgactactg gggccaggga accctggtca ctgtctctc a 351

<210> 158
<211> 117
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 158
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Val Ser Gly Arg Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Tyr Trp Asp Ile Ser Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 159
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 159
 ggattcacct ttagcagtta tgcc

24

<210> 160
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 160
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
 1 5

<210> 161
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 161
 gtaagtggaa gaggtggtag taca

24

<210> 162
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 162
 Val Ser Gly Arg Gly Gly Ser Thr
 1 5

<210> 163
 <211> 30
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 163
 gcgtattggg atatcagctc gtttgactac

30

<210> 164
 <211> 10
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 164

Ala Tyr Trp Asp Ile Ser Ser Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 165

<211> 324

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 165

gacatccagt tgaccacagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgct gggccagtc gggcattagc acttatcttag cctgggtatca gcaaaaacca 120
 gggaaaacc ctaaaactcct gatctatgct gcatccactt tgcaaagtgg agtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgctcac tttcggcgga 300
 gggaccaagc tggagatcaa acga 324

<210> 166

<211> 108

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 166

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Gly Ile Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 167

<211> 18

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 167

cagggcatta gcacttat

18

<210> 168

<211> 6

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 168
Gln Gly Ile Ser Thr Tyr
1 5

<210> 169
<211> 9
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 169
gctgcatcc 9

<210> 170
<211> 3
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 170
Ala Ala Ser
1

<210> 171
<211> 27
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 171
caacagttta atagttaccc gctcact 27

<210> 172
<211> 9
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 172
Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 173
<211> 351
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 173
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agttatgcc a tgacctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggcttgagtg ggtctcaggt gtaagtggaa gaggtggtag tacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cagcgtgtat 240

```
cttcaaatga acagcctgag agccgaggac acggcgtgt attactgtgc gtattgggat 300
atcagctcgt ttgactactg gggccagga accctggtca ctgtctcttc a 351
```

```
<210> 174
<211> 117
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність
```

<220>
<223> Синтетична
<400> 174

[illegible]

```
<210> 175
<211> 321
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність
```

<220>
<223> Синтетична

<400>	175						
gacatccagt	tgaccacgct	tccatccctt	ctgtctgcat	ctgtaggaga	cagagtcacc		60
atcacttgct	gggccagtca	gggcattagc	acttattttg	ctcgggtatca	gcaaaaacca		120
gggaaaacc	ctaaactcct	gatctatgtc	gcattccactt	tgcaaagtgg	agtcccatca		180
aggttcagcg	gcagtggtac	tgggacagat	ttcactctca	caatcagcag	cctgcagcct		240
gaagattttg	caacttatta	ctgtcaacag	tttaattagt	accgcgtcac	tttcggcgga		300
gggaccaagg	tggagatcaa	a					321

```
<210> 176
<211> 107
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність
```

<223> Синтетична

```

<400> 176
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1             5             10             15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Gly Ile Ser Thr Tyr
          20             25             30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Thr Pro Lys Leu Leu Ile
          35             40             45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50             55             60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65             70             75             80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu
          85             90             95

```


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

<210> 177
<211> 369
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 177
gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtgggtccagc ctggggagatc cctgagactc 60
tcctgtgtgg cctctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggaatg ggtggcagtt atatcatatg atggaaataa tgatttgtat 180
tcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa cgcgctgtct 240
ctgcaaataa ccagcctgag agctgaggac acggctgtct attactgtgc gagagatagt 300
acgatgactc cctactacta ccacggtata gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 178
<211> 123
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 178
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Asp Leu Tyr Ser Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ala Leu Ser
65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Ser Thr Met Thr Pro Tyr Tyr Tyr His Gly Ile Asp Val
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 179
<211> 24
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 179
ggattcacct tcagtaacta tggc 24

<210> 180
<211> 8
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 180
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly
1 5

<210> 181
<211> 24
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 181
atatcatatg atggaataa tgat 24

<210> 182
<211> 8
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 182
Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Asp
1 5

<210> 183
<211> 48
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 183
gcgagagata gtacgatgac tccctactac taccacggta tagacgtc 48

<210> 184
<211> 16
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 184
Ala Arg Asp Ser Thr Met Thr Pro Tyr Tyr Tyr His Gly Ile Asp Val
1 5 10 15

<210> 185
<211> 324
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 185
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttag gctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagac ttactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt accctccgac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggagatcaa acga 324

<210> 186
<211> 108
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична
<400> 186
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 187
<211> 18
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична
<400> 187
caggacatta gaaatgat 18

<210> 188
<211> 6
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична
<400> 188
Gln Asp Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 189
<211> 9
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 189
gctgcatcc 9

<210> 190
<211> 3
<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 190

Ala Ala Ser

1

<210> 191

<211> 27

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 191

ctacagcata atagttaccc tccgacg

27

<210> 192

<211> 9

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 192

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Pro Thr

1

5

<210> 193

<211> 366

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 193

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggagatc cctgagactc 60
tcctgtgtgg cctctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggaatg ggtggcagtt atatcatatg atggaaataa tgatttgtat 180
tcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca atgccaagaa cgcgctgtct 240
ctgcaaatga ccagcctgag agctgaggac acggctgtct attactgtgc gagagatagt 300
acgatgactc cctactacta ccacggtata gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
gtctcc 366

<210> 194

<211> 122

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 194

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Asp Leu Tyr Ser Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ala Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Ser Thr Met Thr Pro Tyr Tyr Tyr His Gly Ile Asp Val
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120

<210> 195
 <211> 321
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 195
 gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttag gctggatatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagac ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt accctccgac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 196
 <211> 107
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 196
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp
 20 25 30
 Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 197
 <211> 363
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична
 <400> 197

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgttcag cctctggatt cacctttagt aaatatgtca tgacctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg gactggagtg ggtctcagct attggtccta ctggtcgtac cacggaatac 180
 gcagactccg tgcagggccg cttcaccatc tccagagaca attccatgaa cacggttttt 240
 cttcacttga acagtctgac agccgaggac acggccgaat attattgtgc gaagatgttt 300

gactggaatt acgacgtgta ctttgactcc tggggccagg gaaccctggt cactgtctcc 360
tca 363

<210> 198
<211> 121
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 198
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr
20 25 30
Val Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Gly Pro Thr Gly Arg Thr Thr Glu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Met Asn Thr Val Phe
65 70 75 80
Leu His Leu Asn Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Glu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Met Phe Asp Trp Asn Tyr Asp Val Tyr Phe Asp Ser Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 199
<211> 24
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 199
ggattcacct ttagtaaata tgtc 24

<210> 200
<211> 8
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 200
Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr Val
1 5

<210> 201
<211> 24
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 201
attggtecta ctggtcgtac cacg 24

<210> 202

..

```

<211> 8
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 202
Ile Gly Pro Thr Gly Arg Thr Thr
 1               5

<210> 203
<211> 42
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 203
gcgaagatgt ttgactggaa ttacgacgtg tactttgact cc 42

<210> 204
<211> 14
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 204
Ala Lys Met Phe Asp Trp Asn Tyr Asp Val Tyr Phe Asp Ser
 1               5               10

<210> 205
<211> 321
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 205
gacatccaga tgaccagtc tcctccatc ttgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc ggaccagtc gagtattagt aattggttgg cctgggatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgtcaacag tattatagat attggacgtt cggccaaggg 300
accaaggtgg agatcaaacg a 321

<210> 206
<211> 107
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 206
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ile Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1               5               10               15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Ser Ile Ser Asn Trp
 20               25               30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile

```

	35					40					45								
Tyr	Lys	Ala	Ser	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly				
	50					55					60								
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro				
65					70					75				80					
Asp	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Tyr	Arg	Tyr	Trp	Thr				
				85					90					95					
Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg									
			100					105											

<210> 207
 <211> 18
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 207
 cagagtatta gtaattgg 18

<210> 208
 <211> 6
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 208
 Gln Ser Ile Ser Asn Trp
 1 5

<210> 209
 <211> 9
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 209
 aaggcgtct 9

<210> 210
 <211> 3
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 210
 Lys Ala Ser
 1

<210> 211
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 211
caacagtatt atagatattg gacg

24

<210> 212
<211> 8
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 212
Gln Gln Tyr Tyr Arg Tyr Trp Thr
1 5

<210> 213
<211> 363
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 213
gaggtgcagc ttgtggagtc tgggggaggc ttggtgcagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgttcag cctctggatt cacctttagt aaatatgtca tgacctgggt ccgccaggct 120
ccaggaagg gactggagtg ggtctcagct attggctcta ctggctcgac caccgaatac 180
gcagactccg tgcagggccg cttcaccatc tccagagaca attccatgaa caccgttttt 240
cttcacttga acagtctgac agccgaggac acggccgaat attattgtgc gaagatgttt 300
gactggaatt acgacgtgta ctttgactcc tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 214
<211> 121
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 214
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr
20 25 30
Val Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Gly Pro Thr Gly Arg Thr Thr Glu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Met Asn Thr Val Phe
65 70 75 80
Leu His Leu Asn Ser Leu Thr Ala Glu Asp Thr Ala Glu Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Met Phe Asp Trp Asn Tyr Asp Val Tyr Phe Asp Ser Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 215
<211> 318
<212> ДНК
<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 215

```

gacatccaga tgaccagtc tccctccatc ttgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc ggaccagtca gactattagt aattggttgg cctgggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgtcaacag tattatagat attggacgtt cggccaaggg 300
accaaggtgg agatcaaa                                     318

```

<210> 216

<211> 106

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 216

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ile Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10          15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Ser Ile Ser Asn Trp
          20          25          30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
          35          40          45
Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
          50          55          60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65          70          75          80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Arg Tyr Trp Thr
          85          90          95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100          105

```

<210> 217

<211> 369

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 217

```

cagggttcagc tgggtgcagtc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt aattatgtca tgaactgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagtt ataagtggta gtggcggtag cacacactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaaaga cgcgtgtat 240
ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggccggtt attactgtgc gaaaggcccg 300
ctggaggctt actactacta caacggtatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
gtctcctca                                     369

```

<210> 218

<211> 123

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 218

```

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1           5           10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
          20          25          30

```

Val	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Val	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	His	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asp	Ala	Leu	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Ala	Lys	Gly	Pro	Leu	Glu	Ala	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Asn	Gly	Met	Asp	Val
			100					105					110		
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser					
		115						120							

<210> 219
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 219
 ggattcacct ttagtaatta tgtc 24

<210> 220
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 220
 Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Val
 1 5

<210> 221
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 221
 ataagtggta gtggcggtag caca 24

<210> 222
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 222
 Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr
 1 5

<210> 223
 <211> 48
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 223

gcgaaggcc cgctggaggc ttactactac tacaacggta tggacgtc

48

<210> 224

<211> 16

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 224

Ala Lys Gly Pro Leu Glu Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Gly Met Asp Val

1

5

10

15

<210> 225

<211> 321

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 225

```

gccatccaga tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgct gggccagtc gccattagc agttatttag cctgggtatca gcacaaacca 120
gggagagccc ctaagctcct gatctattct acatccactt tgcaaagtgg agtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactcttca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag cttaatatgt accccactt cggccaaggg 300
accaagctgg agatcaaacg a 321

```

<210> 226

<211> 107

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 226

```

Ala Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Ala Ile Ser Ser Tyr
 20           25           30
Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35           40           45
Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Thr
 85           90           95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100          105

```

<210> 227

<211> 18

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

 <400> 227
 caggccatta gcagttat 18

 <210> 228
 <211> 6
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 228
 Gln Ala Ile Ser Ser Tyr
 1 5

 <210> 229
 <211> 9
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 229
 tctacatcc 9

 <210> 230
 <211> 3
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 230
 Ser Thr Ser
 1

 <210> 231
 <211> 24
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 231
 caacagctta atagttaccc cacc 24

 <210> 232
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Синтетична

 <400> 232
 Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Thr
 1 5

<210> 233
 <211> 369
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 233
 gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt aattatgtca tgaactgggt ccgccagget 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagtt ataagtggta gtggcggtag cacacactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaaaga cgcgctgtat 240
 ctacaaatga acagcctgag agccgaggac acggccggtt attactgtgc gaaaggcccg 300
 ctggaggctt actactacta caacgggtatg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360
 gtctcctca 369

<210> 234
 <211> 123
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 234
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Val Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Val Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr His Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asp Ala Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Pro Leu Glu Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Asn Gly Met Asp Val
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 235
 <211> 318
 <212> ДНК
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<400> 235
 gacatccagt tgaccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgct gggccagtc gccattagc agttatttag cctgggtatca gcacaaacca 120
 gggagagccc ctaagctcct gatctattct acatccactt tgcaaagtgg agtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttatta ctgtcaacag cttaatagtt accccacctt cggccaaggg 300
 accaagctgg agatcaaa 318

<210> 236
 <211> 106
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 236

```

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1           5           10           15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Ala Ile Ser Ser Tyr
          20          25          30
Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu Ile
          35          40          45
Tyr Ser Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50           55           60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65           70           75           80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Thr
          85          90          95
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
          100         105

```

<210> 237

<211> 8

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Gly

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Phe

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Thr

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Phe

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Ser

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Thr, Ser, чи Asn

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Tyr

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (8)...(8)
 <223> Xaa = Gly, Trp, Val, чи Ala

<400> 237
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

<210> 238
 <211> 8
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa = Ile чи Val

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa = Ser чи Lys

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa = Gly чи Glu

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (4)...(4)
 <223> Xaa = Thr, Asp, Ser, чи Arg

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (5)...(5)
 <223> Xaa = Gly

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (6)...(6)
 <223> Xaa = Arg, Ser, чи Gly

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (7)...(7)
 <223> Xaa = Thr, Glu, чи Ser

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (8)...(8)
 <223> Xaa = Thr чи Lys

<400> 238
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

<210> 239
 <211> 16
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Synthetic

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa = Thr чи Ala

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa = Lys, Arg чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa = Glu, Gly чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (4)...(4)
 <223> Xaa = Asp, Pro чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (5)...(5)
 <223> Xaa = Leu чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (6)...(6)
 <223> Xaa = Arg, Tyr, Glu чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (7)...(7)
 <223> Xaa = Gly, Asp, Ala чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (8)...(8)
 <223> Xaa = Asp, Ser чи Tyr

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (9)...(9)
 <223> Xaa = Tyr чи Trp

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (10)...(10)
 <223> Xaa = Tyr чи Asp

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (11)...(11)
 <223> Xaa =Tyr, Lys чи Ile

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (12)...(12)
 <223> Xaa = Gly, Tyr, Asn, чи Ser

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (13)...(13)
 <223> Xaa =Val, Gly чи Ser

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (14)...(14)
 <223> Xaa = Phe чи Met

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (15)...(15)
 <223> Xaa = Asp

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (16)...(16)
 <223> Xaa = Tyr чи Val

<400> 239
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

<210> 240
 <211> 12
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa = Gln

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa = Thr, Ser, Ala чи Gly

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa = Ile

<220>
 <221> ВАРИАНТ

<222> (4)...(4)
 <223> Xaa = Ser чи Leu

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (5)...(5)
 <223> Xaa = Tyr чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (6)...(6)
 <223> Xaa = Ser чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (7)...(7)
 <223> Xaa = Ser чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (8)...(8)
 <223> Xaa = Asn чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (9)...(9)
 <223> Xaa = Asn чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (10)...(10)
 <223> Xaa = Lys чи відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (11)...(11)
 <223> Xaa = Ser, Asn чи Thr

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (12)...(12)
 <223> Xaa = Trp чи Tyr

<400> 240
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 241
 <211> 3
 <212> ПЗТ
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<220>
 <221> ВАРИАНТ

<222> (1)...(1)
 <223> Xaa = Ala, Trp чи Ser

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa = Ala чи Thr

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa = Ser

<400> 241
 Xaa Xaa Xaa
 1

<210> 242
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> Синтетична

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa =Gln

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa = Gln

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa = Tyr, Leu чи Phe

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (4)...(4)
 <223> Xaa = His, Tyr or Asn

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (5)...(5)
 <223> Xaa = Arg чи Ser

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (6)...(6)
 <223> Xaa = Ser, Thr чи Tyr

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (7)...(7)
 <223> Xaa =Trp чи Pro

<220>

<221> ВАРИАНТ
 <222> (8)...(8)
 <223> Xaa = Phe, Leu або відсутній

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> (9)...(9)
 <223> Xaa = Thr

<400> 242
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

<210> 243
 <211> 756
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 243
 atggccgagg atctgggact gagctttggg gaaacagcca gtgtggaaat gctgccagag 60
 caccggcagct gcaggcccaa ggccaggagc agcagcgac gctgggctct caccgtgctgc 120
 ctgggtgttg tccccttctt tgcaggactc accacatacc tgcttgtagc ccagctccgg 180
 gcccagggag aggcctgtgt gcagttccag gctctaaaag gacaggagtt tgcaccttca 240
 catcagcaag tttatgcacc tcttagagca gacggagata agccaagggc acacctgaca 300
 gttgtgagac aaactcccac acagcacttt aaaaatcagt tcccagctct gcactgggaa 360
 catgaactag gcctggcctt caccaagaac cgaatgaact ataccaacaa attcctgctg 420
 atcccagagt cgggagacta cttcatttac tcccagggtc cattccgtgg gatgacctct 480
 gagtgcagtg aaatcagaca agcaggccga ccaaacaagc cagactccat cactgtggtc 540
 ataccaagg taacagacag ctaccctgag ccaacccagc tcctcatggg gaccaagtct 600
 gtatgcgaag taggtagcaa ctggttccag cccatctacc tcggagccat gttctccttg 660
 caagaagggg acaagctaag ggtgaacgtc agtgacatct ctttggtgga ttacacaaaa 720
 gaagataaaa ctttctttgg agccttctta ctatag 756

<210> 244
 <211> 251
 <212> ПЗТ
 <213> Homo sapiens

<400> 244
 Met Ala Glu Asp Leu Gly Leu Ser Phe Gly Glu Thr Ala Ser Val Glu
 1 5 10 15
 Met Leu Pro Glu His Gly Ser Cys Arg Pro Lys Ala Arg Ser Ser Ser
 20 25 30
 Ala Arg Trp Ala Leu Thr Cys Cys Leu Val Leu Leu Pro Phe Leu Ala
 35 40 45
 Gly Leu Thr Thr Tyr Leu Leu Val Ser Gln Leu Arg Ala Gln Gly Glu
 50 55 60
 Ala Cys Val Gln Phe Gln Ala Leu Lys Gly Gln Glu Phe Ala Pro Ser
 65 70 75 80
 His Gln Gln Val Tyr Ala Pro Leu Arg Ala Asp Gly Asp Lys Pro Arg
 85 90 95
 Ala His Leu Thr Val Val Arg Gln Thr Pro Thr Gln His Phe Lys Asn
 100 105 110
 Gln Phe Pro Ala Leu His Trp Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr
 115 120 125
 Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr Asn Lys Phe Leu Leu Ile Pro Glu Ser
 130 135 140
 Gly Asp Tyr Phe Ile Tyr Ser Gln Val Thr Phe Arg Gly Met Thr Ser
 145 150 155 160
 Glu Cys Ser Glu Ile Arg Gln Ala Gly Arg Pro Asn Lys Pro Asp Ser
 165 170 175
 Ile Thr Val Val Ile Thr Lys Val Thr Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Thr
 180 185 190
 Gln Leu Leu Met Gly Thr Lys Ser Val Cys Glu Val Gly Ser Asn Trp

```

      195              200              205
Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly Ala Met Phe Ser Leu Gln Glu Gly Asp
      210              215              220
Lys Leu Met Val Asn Val Ser Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys
225              230              235              240
Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly Ala Phe Leu Leu
      245              250

```

```

<210> 245
<211> 756
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 245
atggccgagg atctgggact gagctttggg gaaacagcca gtgtggaaat gctgccagag 60
cacggcagct gcaggcccaa ggccaggagc agcagcgcac gctgggctct cacctgctgc 120
ctggtgtgtg tcccccttct tgcaggactc accacatacc tgcttgtcag ccagctccgg 180
gccccaggag aggcctgtgt gcagttccag gctctaaaag gacaggagtt tgcaccttca 240
catcagcaag tttatgcacc tcttagagca gacggagata agccaagggc acacctgaca 300
gttgtagagc aaactcccac acagcacttt aaaaatcagt tcccagctct gcactgggaa 360
catgaactag gcctggcctt caccaagaac cgaatgaact ataccaacaa attcctgctg 420
atcccagagt cgggagacta cttcattttac tcccagggtca cattccgtgg gatgacctct 480
gagtgcaagt aaatcagacg agcaggccga ccaaacaagc cagactccat cactgtggtc 540
atcaccaagg taacagacag ctacctgag ccaaccagc tcctcatggg gaccaagtct 600
gtatgcgaag taggtagcaa ctggttccag cccatctacc tcggagccat gttctccttg 660
caagaagggg acaagctaag ggtgaacgtc agtgacatct ctttggtgga ttacacaaaa 720
gaagataaaa ccttcttttg agccttctta ctatag 756

```

```

<210> 246
<211> 251
<212> ПЗТ
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 246
Met Ala Glu Asp Leu Gly Leu Ser Phe Gly Glu Thr Ala Ser Val Glu
  1          5          10          15
Met Leu Pro Glu His Gly Ser Cys Arg Pro Lys Ala Arg Ser Ser Ser
      20          25          30
Ala Arg Trp Ala Leu Thr Cys Cys Leu Val Leu Leu Pro Phe Leu Ala
      35          40          45
Gly Leu Thr Thr Tyr Leu Leu Val Ser Gln Leu Arg Ala Gln Gly Glu
      50          55          60
Ala Cys Val Gln Phe Gln Ala Leu Lys Gly Gln Glu Phe Ala Pro Ser
      65          70          75          80
His Gln Gln Val Tyr Ala Pro Leu Arg Ala Asp Gly Asp Lys Pro Arg
      85          90          95
Ala His Leu Thr Val Val Arg Gln Thr Pro Thr Gln His Phe Lys Asn
      100          105          110
Gln Phe Pro Ala Leu His Trp Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr
      115          120          125
Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr Asn Lys Phe Leu Leu Ile Pro Glu Ser
      130          135          140
Gly Asp Tyr Phe Ile Tyr Ser Gln Val Thr Phe Arg Gly Met Thr Ser
      145          150          155          160
Glu Cys Ser Glu Ile Arg Arg Ala Gly Arg Pro Asn Lys Pro Asp Ser
      165          170          175
Ile Thr Val Val Ile Thr Lys Val Thr Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Thr
      180          185          190
Gln Leu Leu Met Gly Thr Lys Ser Val Cys Glu Val Gly Ser Asn Trp
      195          200          205
Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly Ala Met Phe Ser Leu Gln Glu Gly Asp
      210          215          220
Lys Leu Met Val Asn Val Ser Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys
      225          230          235          240
Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly Ala Phe Leu Leu

```

245

250

<210> 247
 <211> 756
 <212> ДНК
 <213> *Macaca fascicularis*

<400> 247
 atggccgagg atctgggact gagctttggg gagacagcca gtgtggaaat gctgccagag 60
 cacggcagct gcaggcccaa ggccaggagc agcagcgcat gctgggctct cacctgctgc 120
 ctggtgttgc tccccttcct tgcagggtc accacctacc tgcttgtag ccagctccgg 180
 gcccgaaggag aggcctgtgt gcagctccag gatctaaaag gacaggagtt tgcaccttca 240
 catcagcaag tttatgcacc tcttagagca gatggagata agccaagggc acacctgaca 300
 gttgtgagac aaactccac acagcactta aaaaatcagt tcccagctct gcactgggaa 360
 catgaactag gcctggcctt caccaagaac cgaatgaact acaccaacaa attcctgctg 420
 atcccagagt cgggagacta cttcgtttac tcccaggtca cattccgtgg gatgacctct 480
 gagtgcagtg aaatcagaca agcaggccga ccaaacaagc cagactccat cactgtggtc 540
 atcaccaagg taacagacag ctaccctgag ccaaccagc tctcatggg gaccaagtct 600
 gtgtgtgaag taggcagtaa ctggttccag cccatctacc tcggagccat gttctccttg 660
 caagaagggg acaagctcat ggtgaacgtc agtgacatct ctttggtgga ttacacaaaa 720
 gaagataaaa ccttctttgg agccttctta ctatag 756

<210> 248
 <211> 251
 <212> ДНК
 <213> *Macaca fascicularis*

<400> 248
 Met Ala Glu Asp Leu Gly Leu Ser Phe Gly Glu Thr Ala Ser Val Glu
 1 5 10 15
 Met Leu Pro Glu His Gly Ser Cys Arg Pro Lys Ala Arg Ser Ser Ser
 20 25 30
 Ala Cys Trp Ala Leu Thr Cys Cys Leu Val Leu Leu Pro Phe Leu Ala
 35 40 45
 Gly Leu Thr Thr Tyr Leu Leu Val Ser Gln Leu Arg Ala Gln Gly Glu
 50 55 60
 Ala Cys Val Gln Leu Gln Asp Leu Lys Gly Gln Glu Phe Ala Pro Ser
 65 70 75 80
 His Gln Gln Val Tyr Ala Pro Leu Arg Ala Asp Gly Asp Lys Pro Arg
 85 90 95
 Ala His Leu Thr Val Val Arg Gln Thr Pro Thr Gln His Leu Lys Asn
 100 105 110
 Gln Phe Pro Ala Leu His Trp Glu His Glu Leu Gly Leu Ala Phe Thr
 115 120 125
 Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr Asn Lys Phe Leu Leu Ile Pro Glu Ser
 130 135 140
 Gly Asp Tyr Phe Val Tyr Ser Gln Val Thr Phe Arg Gly Met Thr Ser
 145 150 155 160
 Glu Cys Ser Glu Ile Arg Gln Ala Gly Arg Pro Asn Lys Pro Asp Ser
 165 170 175
 Ile Thr Val Val Ile Thr Lys Val Thr Asp Ser Tyr Pro Glu Pro Thr
 180 185 190
 Gln Leu Leu Met Gly Thr Lys Ser Val Cys Glu Val Gly Ser Asn Trp
 195 200 205
 Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly Ala Met Phe Ser Leu Gln Glu Gly Asp
 210 215 220
 Lys Leu Met Val Asn Val Ser Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr Lys
 225 230 235 240
 Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly Ala Phe Leu Leu
 245 250

<210> 249
 <211> 759
 <212> ДНК

<213> Mus musculus

<400> 249

```

atggcagagg agctgggggtt gggcttcgga gaaggagtcc cagtgggaagt gctgccggaa 60
ggctgtagac acaggccaga ggcaggggcc gggctagctg ccaggagcaa agcctgcctg 120
gctctcacct gctgcctgtt gtcatttccc atcctcgcag gacttagcac cctcctaattg 180
gctggccagc tccgggtccc cggaaaagac tgtatgcttc gggccataac agaagagaga 240
tctgagcctt caccacagca agtttactca cctcccagag gcaagccgag agcacacctg 300
acaattaaga aacaaacccc agcaccacat ctgaaaaatc agctctctgc tctacactgg 360
gaacatgacc tagggatggc cttaccaag aacgggatga agtacatcaa caaatccctg 420
gtgatcccag agtcaggaga ctatttcata tactcccaga tcacattccg agggaccaca 480
tctgtgtgtg gtgacatcag tcgggggaga cgaccaaaca agccagactc catcaccatg 540
gttatcacca aggtagcaga cagctaccct gagcctgccc gcctactaac aggggtccaag 600
tctgtgtgtg aaataagcaa caactgggtc cagtcctct accttggggc cacgttctcc 660
ttggaagaag gagacagact aatggtaaac gtcagtgaac tctccttggg ggattacaca 720
aaagaagata aaactttctt tggagcttcc ttgctataa 759

```

<210> 250

<211> 252

<212> M3T

<213> Mus musculus

<400> 250

```

Met Ala Glu Glu Leu Gly Leu Gly Phe Gly Glu Gly Val Pro Val Glu
1      5      10      15
Val Leu Pro Glu Gly Cys Arg His Arg Pro Glu Ala Arg Ala Gly Leu
20     25     30
Ala Ala Arg Ser Lys Ala Cys Leu Ala Leu Thr Cys Cys Leu Leu Ser
35     40     45
Phe Pro Ile Leu Ala Gly Leu Ser Thr Leu Leu Met Ala Gly Gln Leu
50     55     60
Arg Val Pro Gly Lys Asp Cys Met Leu Arg Ala Ile Thr Glu Glu Arg
65     70     75     80
Ser Glu Pro Ser Pro Gln Gln Val Tyr Ser Pro Pro Arg Gly Lys Pro
85     90     95
Arg Ala His Leu Thr Ile Lys Lys Gln Thr Pro Ala Pro His Leu Lys
100    105    110
Asn Gln Leu Ser Ala Leu His Trp Glu His Asp Leu Gly Met Ala Phe
115    120    125
Thr Lys Asn Gly Met Lys Tyr Ile Asn Lys Ser Leu Val Ile Pro Glu
130    135    140
Ser Gly Asp Tyr Phe Ile Tyr Ser Gln Ile Thr Phe Arg Gly Thr Thr
145    150    155    160
Ser Val Cys Gly Asp Ile Ser Arg Gly Arg Arg Pro Asn Lys Pro Asp
165    170    175
Ser Ile Thr Met Val Ile Thr Lys Val Ala Asp Ser Tyr Pro Glu Pro
180    185    190
Ala Arg Leu Leu Thr Gly Ser Lys Ser Val Cys Glu Ile Ser Asn Asn
195    200    205
Trp Phe Gln Ser Leu Tyr Leu Gly Ala Thr Phe Ser Leu Glu Glu Gly
210    215    220
Asp Arg Leu Met Val Asn Val Ser Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr
225    230    235    240
Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly Ala Phe Leu Leu
245    250

```

<210> 251

<211> 1254

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 251

```

atggagcagc ggccgcgggg ctgcgcggcg gtggcggcgg cgctcctcct ggtgctgctg 60
ggggcccggg cccagggcgg cactcgtagc cccaggtgtg actgtgccgg tgacttccac 120
aagaagattg gtctgttttg ttgcagaggc tgcccagcgg ggcactacct gaagggccct 180

```



```

tgcacggagc cctcgggcaa ctccacctgc cttgtgtgtc cccaagacac cttcttggcc 240
tgggagaacc accataattc tgaatgtgcc cgctgccagg cctgtgatga gcaggcctcc 300
caggtggcgc tggagaactg ttcagcagtg gccgacaccc gctgtggctg taagccaggc 360
tggtttgtgg agtgccagggt cagccaatgt gtcagcagtt cacccttcta ctgccaacca 420
tgcctagact gcggggccct gcaccgccac acacggctac tctgttcccg cagagatact 480
gactgtggga cctgcctgcc tggcttctat gaacatggcg atggctgcgt gtcctgcccc 540
acgagcaccg tggggagctg tccagagcgc tgtgccgctg tctgtggctg gaggcagatg 600
ttctgggtcc aggtgctcct ggctggcctt gtggtccccc tctgtcttgg gccaccctg 660
acctacacat accgccactg ctggcctcac aagcccctgg ttactgcaga tgaagctggg 720
atggaggctc tgaccccacc accggccacc catctgtcac ccttgacag cgccacacc 780
cttctagcac ctctgacag cagtgagaag atctgcaccg tccagttggg gggtaacagc 840
tggacccctg gctaccccga gaccaggag gcgctctgcc cgcaggtgac atggtcctgg 900
gaccagttgc ccagcagagc tcttggcccc gctgtgcgc ccacactctc gccagagtcc 960
ccagccggct cgcagcccat gatgctgcag ccgggcccgc agctctacga cgtgatggac 1020
gcggtcccag cgcggcgtg gaaggagttc gtgcgcacgc tggggctgcg cgaggcagag 1080
atcgaagccg tggaggtgga gatcggccgc ttccgagacc agcagtacga gatgctcaag 1140
cgctggcgcc agcagcagcc cgcgggcctc ggagccgttt acgcggccct ggagcgcagt 1200
gggctggacg gctgcgtgga agacttgccg agccgcctgc agcgcgccc gtga 1254

```

<210> 252

<211> 417

<212> ПЗТ

<213> Homo sapiens

<400> 252

```

Met Glu Gln Arg Pro Arg Gly Cys Ala Ala Val Ala Ala Ala Leu Leu
 1          5          10          15
Leu Val Leu Leu Gly Ala Arg Ala Gln Gly Gly Thr Arg Ser Pro Arg
 20          25          30
Cys Asp Cys Ala Gly Asp Phe His Lys Lys Ile Gly Leu Phe Cys Cys
 35          40          45
Arg Gly Cys Pro Ala Gly His Tyr Leu Lys Ala Pro Cys Thr Glu Pro
 50          55          60
Cys Gly Asn Ser Thr Cys Leu Val Cys Pro Gln Asp Thr Phe Leu Ala
 65          70          75          80
Trp Glu Asn His His Asn Ser Glu Cys Ala Arg Cys Gln Ala Cys Asp
 85          90          95
Glu Gln Ala Ser Gln Val Ala Leu Glu Asn Cys Ser Ala Val Ala Asp
100          105          110
Thr Arg Cys Gly Cys Lys Pro Gly Trp Phe Val Glu Cys Gln Val Ser
115          120          125
Gln Cys Val Ser Ser Ser Pro Phe Tyr Cys Gln Pro Cys Leu Asp Cys
130          135          140
Gly Ala Leu His Arg His Thr Arg Leu Leu Cys Ser Arg Arg Asp Thr
145          150          155          160
Asp Cys Gly Thr Cys Leu Pro Gly Phe Tyr Glu His Gly Asp Gly Cys
165          170          175
Val Ser Cys Pro Thr Ser Thr Leu Gly Ser Cys Pro Glu Arg Cys Ala
180          185          190
Ala Val Cys Gly Trp Arg Gln Met Phe Trp Val Gln Val Leu Leu Ala
195          200          205
Gly Leu Val Val Pro Leu Leu Leu Gly Ala Thr Leu Thr Tyr Thr Tyr
210          215          220
Arg His Cys Trp Pro His Lys Pro Leu Val Thr Ala Asp Glu Ala Gly
225          230          235          240
Met Glu Ala Leu Thr Pro Pro Pro Ala Thr His Leu Ser Pro Leu Asp
245          250          255
Ser Ala His Thr Leu Leu Ala Pro Pro Asp Ser Ser Glu Lys Ile Cys
260          265          270
Thr Val Gln Leu Val Gly Asn Ser Trp Thr Pro Gly Tyr Pro Glu Thr
275          280          285
Gln Glu Ala Leu Cys Pro Gln Val Thr Trp Ser Trp Asp Gln Leu Pro
290          295          300
Ser Arg Ala Leu Gly Pro Ala Ala Ala Pro Thr Leu Ser Pro Glu Ser
305          310          315          320
Pro Ala Gly Ser Pro Ala Met Met Leu Gln Pro Gly Pro Gln Leu Tyr

```

```

          325          330          335
Asp Val Met Asp Ala Val Pro Ala Arg Arg Trp Lys Glu Phe Val Arg
          340          345          350
Thr Leu Gly Leu Arg Glu Ala Glu Ile Glu Ala Val Glu Val Glu Ile
          355          360          365
Gly Arg Phe Arg Asp Gln Gln Tyr Glu Met Leu Lys Arg Trp Arg Gln
          370          375          380
Gln Gln Pro Ala Gly Leu Gly Ala Val Tyr Ala Ala Leu Glu Arg Met
385          390          395          400
Gly Leu Asp Gly Cys Val Glu Asp Leu Arg Ser Arg Leu Gln Arg Gly
          405          410          415
Pro

```

<210> 253
 <211> 900
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

```

<400> 253
atgagggcgc tggaggggccc aggcctgtcg ctgctgtgcc tgggtgttggc gctgcctgcc 60
ctgctgcccgg tgccggctgt acgcggagtg gcagaaacac ccacctaccc ctggcgggac 120
gcagagacag gggagcggtt ggtgtgcgcc cagtgcctcc caggcaacct tgtgcagcgg 180
ccgtgccgcc gagacagccc caccgagtggt ggcccgtgtc caccgcgccca ctacacgcag 240
ttctggaact acctggagcg ctgccgctac tgcaacgtcc tctgcgggga gcgtgaggag 300
gaggcacggg cttgccacgc caccacaac cgtgcctgcc gctgcgcac cggcttcttc 360
gcgcacgctg gtttctgctt ggagcacgca tcgtgtccac ctggtgccgg cgtgattgcc 420
ccgggcaccc ccagccagaa caccgagtg cagccgtgcc cccaggcac cttctcagcc 480
agcagctcca gctcagagca gtgccagccc caccgcaact gcacggccct gggcctggcc 540
ctcaatgtgc caggctcttc ctccatgac acctgtgca ccagctgcac tggcttcccc 600
ctcagcacca gggtagcagg agctgaggag tgtgagcgtg ccgtcatcga ctttgtggct 660
ttccaggaca tctccatcaa gaggtgcag cggctgtgc aggcctcga ggccccggag 720
ggctggggtc cgacaccaag ggcgggccgc gcggccttgc agctgaagct gcgtcgccgg 780
ctcacggagc tcttgggggc gcaggacggg gcgctgtcgg tgcggctgct gcaggcgtg 840
cgcggtggcca ggtgcccgg gctggagcgg agcgtccgtg agcgttccct cctgtgcac 900

```

<210> 254
 <211> 300
 <212> ПЗТ
 <213> Homo sapiens

```

<400> 254
Met Arg Ala Leu Glu Gly Pro Gly Leu Ser Leu Leu Cys Leu Val Leu
1          5          10          15
Ala Leu Pro Ala Leu Leu Pro Val Pro Ala Val Arg Gly Val Ala Glu
20          25          30
Thr Pro Thr Tyr Pro Trp Arg Asp Ala Glu Thr Gly Glu Arg Leu Val
35          40          45
Cys Ala Gln Cys Pro Pro Gly Thr Phe Val Gln Arg Pro Cys Arg Arg
50          55          60
Asp Ser Pro Thr Thr Cys Gly Pro Cys Pro Pro Arg His Tyr Thr Gln
65          70          75          80
Phe Trp Asn Tyr Leu Glu Arg Cys Arg Tyr Cys Asn Val Leu Cys Gly
85          90          95
Glu Arg Glu Glu Glu Ala Arg Ala Cys His Ala Thr His Asn Arg Ala
100         105         110
Cys Arg Cys Arg Thr Gly Phe Phe Ala His Ala Gly Phe Cys Leu Glu
115         120         125
His Ala Ser Cys Pro Pro Gly Ala Gly Val Ile Ala Pro Gly Thr Pro
130         135         140
Ser Gln Asn Thr Gln Cys Gln Pro Cys Pro Pro Gly Thr Phe Ser Ala
145         150         155         160
Ser Ser Ser Ser Ser Glu Gln Cys Gln Pro His Arg Asn Cys Thr Ala
165         170         175

```

```

Leu Gly Leu Ala Leu Asn Val Pro Gly Ser Ser Ser His Asp Thr Leu
      180                      185                      190
Cys Thr Ser Cys Thr Gly Phe Pro Leu Ser Thr Arg Val Pro Gly Ala
      195                      200                      205
Glu Glu Cys Glu Arg Ala Val Ile Asp Phe Val Ala Phe Gln Asp Ile
      210                      215                      220
Ser Ile Lys Arg Leu Gln Arg Leu Leu Gln Ala Leu Glu Ala Pro Glu
      225                      230                      235                      240
Gly Trp Gly Pro Thr Pro Arg Ala Gly Arg Ala Ala Leu Gln Leu Lys
      245                      250                      255
Leu Arg Arg Arg Leu Thr Glu Leu Leu Gly Ala Gln Asp Gly Ala Leu
      260                      265                      270
Leu Val Arg Leu Leu Gln Ala Leu Arg Val Ala Arg Met Pro Gly Leu
      275                      280                      285
Glu Arg Ser Val Arg Glu Arg Phe Leu Pro Val His
      290                      295                      300

```

<210> 255

<211> 330

<212> ПЗТ

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетична

<400> 255

```

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
  1      5      10      15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
      20      25      30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
      35      40      45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
      50      55      60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
      65      70      75      80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
      85      90      95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
      100     105     110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
      115     120     125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
      130     135     140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
      145     150     155     160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
      165     170     175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
      180     185     190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
      195     200     205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
      210     215     220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
      225     230     235     240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
      245     250     255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
      260     265     270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
      275     280     285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
      290     295     300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

```

305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 256
<211> 327
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 256
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 257
<211> 327
<212> ПЗТ
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> Синтетична

<400> 257

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325

<210> 258

<211> 252

<212> P3T

<213> Rattus norvegicus

<400> 258

Met Ala Glu Glu Leu Gly Leu Gly Phe Gly Glu Ala Val Pro Val Glu
 1 5 10 15
 Met Leu Pro Glu Gly Cys Arg His Arg Arg Glu Ala Arg Thr Gly Leu
 20 25 30
 Ala Ala Arg Ser Lys Ala Cys Leu Ala Leu Thr Cys Cys Leu Leu Ser
 35 40 45
 Phe Pro Ile Leu Ala Gly Leu Ser Thr Leu Leu Met Thr Gly Gln Leu
 50 55 60
 Arg Ile Pro Gly Lys Asp Cys Met Phe Pro Thr Val Thr Glu Glu Arg
 65 70 75 80
 Ser Ala Pro Ser Ala Gln Pro Val Tyr Thr Pro Ser Arg Asp Lys Pro
 85 90 95
 Lys Ala His Leu Thr Ile Met Arg Gln Thr Pro Val Pro His Leu Lys
 100 105 110
 Asn Glu Leu Ala Ala Leu His Trp Glu Asn Asn Leu Gly Met Ala Phe

```

      115              120              125
Thr Lys Asn Arg Met Asn Tyr Thr Asn Lys Phe Leu Val Ile Pro Glu
      130              135              140
Ser Gly Asp Tyr Phe Ile Tyr Ser Gln Ile Thr Phe Arg Gly Thr Thr
145      150              155              160
Ser Glu Cys Gly Asp Ile Ser Arg Val Arg Arg Pro Lys Lys Pro Asp
      165              170              175
Ser Ile Thr Val Val Ile Thr Lys Val Ala Asp Ser Tyr Pro Glu Pro
      180              185              190
Ala His Leu Leu Thr Gly Thr Lys Ser Val Cys Glu Ile Ser Ser Asn
      195              200              205
Trp Phe Gln Pro Ile Tyr Leu Gly Ala Met Phe Ser Leu Glu Glu Gly
210      215              220
Asp Arg Leu Met Val Asn Val Ser Asp Ile Ser Leu Val Asp Tyr Thr
225      230              235              240
Lys Glu Asp Lys Thr Phe Phe Gly Ala Phe Leu Ile
      245              250

```

<210> 259
 <211> 411
 <212> NST
 <213> Mus musculus

```

<400> 259
Met Glu Ala Arg Leu Leu Arg Gly Cys Val Val Glu Pro Leu Phe Leu
 1      5      10      15
Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Gly Gln Gly Gln Gly
      20      25      30
Gly Met Ser Gly Arg Cys Asp Cys Ala Ser Glu Ser Gln Lys Arg Tyr
      35      40      45
Gly Pro Phe Cys Cys Arg Gly Cys Pro Lys Gly His Tyr Met Lys Ala
 50      55      60
Pro Cys Ala Glu Pro Cys Gly Asn Ser Thr Cys Leu Pro Cys Pro Ser
65      70      75      80
Asp Thr Phe Leu Thr Arg Asp Asn His Phe Lys Thr Asp Cys Thr Arg
      85      90      95
Cys Gln Val Cys Asp Glu Glu Ala Leu Gln Val Thr Leu Glu Asn Cys
      100      105      110
Ser Ala Lys Ser Asp Thr His Cys Gly Cys Gln Ser Gly Trp Cys Val
      115      120      125
Asp Cys Ser Thr Glu Pro Cys Gly Lys Ser Ser Pro Phe Ser Cys Val
      130      135      140
Pro Cys Gly Ala Thr Thr Pro Val His Glu Ala Pro Thr Pro Arg Pro
145      150      155      160
Cys Leu Pro Gly Phe Tyr Ile Arg Gly Asn Asp Cys Thr Ser Cys Pro
      165      170      175
Thr Gly Phe Ser Ser Val Cys Pro Lys Ala Cys Thr Ala Val Cys Gly
      180      185      190
Trp Lys Gln Met Phe Trp Val Gln Val Leu Leu Gly Val Ala Phe Leu
195      200      205
Phe Gly Ala Ile Leu Ile Cys Ala Tyr Cys Arg Trp Gln Pro Cys Lys
210      215      220
Ala Val Val Thr Ala Asp Thr Ala Gly Thr Glu Thr Leu Ala Ser Pro
225      230      235      240
Gln Thr Ala His Leu Ser Ala Ser Asp Ser Ala His Thr Leu Leu Ala
      245      250      255
Pro Pro Ser Ser Thr Gly Lys Ile Cys Thr Thr Val Gln Leu Val Gly
      260      265      270
Asn Asn Trp Thr Pro Gly Leu Ser Gln Thr Gln Glu Val Val Cys Gly
      275      280      285
Gln Ala Ser Gln Pro Trp Asp Gln Leu Pro Asn Arg Thr Leu Gly Thr
290      295      300
Pro Leu Ala Ser Pro Leu Ser Pro Ala Pro Pro Ala Gly Ser Pro Ala
305      310      315      320
Ala Val Leu Gln Pro Gly Pro Gln Leu Tyr Asp Val Met Asp Ala Val

```

```

          325          330          335
Pro Ala Arg Arg Trp Lys Glu Phe Val Arg Thr Leu Gly Leu Arg Glu
          340          345          350
Ala Glu Ile Glu Ala Val Glu Val Glu Ile Cys Arg Phe Arg Asp Gln
          355          360          365
Gln Tyr Glu Met Leu Lys Arg Trp Arg Gln Gln Gln Pro Ala Gly Leu
          370          375          380
Gly Ala Ile Tyr Ala Ala Leu Glu Arg Met Gly Leu Glu Gly Cys Ala
          385          390          395          400
Glu Asp Leu Arg Ser Arg Leu Gln Arg Gly Pro
          405          410

```

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 1. Виділене людське антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент, які специфічно зв'язують і нейтралізують активність людського TNF-подібного ліганду 1A (hTL1A), що містять три гіперваріабельні ділянки важкого ланцюга та три гіперваріабельні ділянки легкого ланцюга (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 та LCDR3), що містяться у парі послідовностей варіабельної ділянки важкого ланцюга (HCVR)/варіабельної ділянки легкого ланцюга (LCVR),
- 10 вибраних з групи, яка складається з послідовностей SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/116, 118/126, 134/136, 138/146, 154/156, 158/166, 174/176, 178/186, 194/196, 198/206, 214/216, 218/226 та 234/236.
2. Антитіло або антигензв'язуючий фрагмент за п. 1, де три комбінації послідовностей HCDR вибрані з групи, що складається з послідовностей SEQ ID NO: 4/6/8, 20/22/24, 36/38/40, 52/54/56,
- 15 68/70/72, 84/86/88, 100/102/104, 120/122/124, 140/142/144, 160/162/164, 180/182/184, 200/202/204 і 220/222/224, та три комбінації послідовностей LCDR вибрані з групи, що складається з послідовностей SEQ ID NO: 12/14/16, 28/30/32, 44/46/48, 60/62/64, 76/78/80, 92/94/96, 108/110/112, 128/130/132, 148/150/152, 168/170/172, 188/190/192, 208/210/212 і 228/230/232.
3. Виділене людське антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент за п. 1, що містять варіабельну ділянку важкого ланцюга (HCVR), яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 118, 134, 138, 154, 158, 174, 178, 194, 198, 214, 218 і 234.
- 20 4. Виділене людське антитіло або його антигензв'язуючий фрагмент за п. 1, що містять варіабельну ділянку легкого ланцюга (LCVR), яка містить амінокислотну послідовність, вибрану з SEQ ID NO: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206, 216, 226 і 236.
- 25 5. Антитіло або антигензв'язуючий фрагмент за п. 1, що містять пару послідовностей HCVR/LCVR, вибраних з SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/116, 118/126, 134/136, 138/146, 154/156, 158/166, 174/176, 178/186, 194/196, 198/206, 214/216,
- 30 218/226 і 234/236.
6. Антитіло або антигензв'язуючий фрагмент за п. 1, що містять пару послідовностей HCVR/LCVR з SEQ ID NO: 2/10, 18/26, 174/176 або 234/236.
7. Антитіло або антигензв'язуючий фрагмент за п. 1, де це антитіло або антигензв'язуючий фрагмент перехресно реагують з TL1A (MfTL1A) яванського макака.
- 35 8. Антитіло або антигензв'язуючий фрагмент за п. 1, де це антитіло або антигензв'язуючий фрагмент перехресно реагують з Fhm, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 246.
9. Антитіло або антигензв'язуючий фрагмент за п. 1, де це антитіло або антигензв'язуючий фрагмент перехресно не реагують з Fhm, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 246.
- 40 10. Виділена молекула нуклеїнової кислоти, кодує антитіло або антигензв'язуючий фрагмент за п. 1.
11. Вектор експресії, який містить молекулу нуклеїнової кислоти за п. 10.
12. Спосіб одержання анти-hTL1A антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента, що включає вирощування клітини-хазяїна, яка містить вектор експресії за п. 11, за умов, що забезпечують одержання антитіла або його фрагмента, і виділення антитіла або його фрагмента, одержаних у
- 45 такий спосіб.
13. Фармацевтична композиція, яка містить антитіло або антигензв'язуючий фрагмент за п. 1 і фармацевтично прийнятний носій.
14. Фармацевтична композиція за п. 13, яка додатково містить один або більше додаткових терапевтичних агентів, вибраних з імуносупресанта, протизапального агента, анальгетика і
- 50 протиалергічного агента.

15. Застосування антитіла або його антигензв'язуючого фрагмента за п. 3 у виробництві медикаменту для лікування хвороби або розладу, які можна попередити, ослабити, поліпшити або пригнітити шляхом усунення, пригнічення або зниження активності TL1A.

5 16. Спосіб лікування хвороби або розладу, що попереджаються, ослабляються, поліпшуються або пригнічуються шляхом усунення, пригнічення або зниження активності TL1A, який включає введення суб'єкту, що потребує того, терапевтично ефективної кількості фармацевтичної композиції за п. 13.

10 17. Спосіб за п. 16, де вказані хвороба або розлад вибираються з виразкового коліту, хвороби Крона, ревматоїдного артриту, розсіяного склерозу, діабету, астми і алергічного запалення легень.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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