



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **98983** (13) **C2**  
(51) МПК

**C07K 16/18** (2006.01)  
**C12N 15/13** (2006.01)  
**C12N 5/10** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61P 7/06** (2006.01)  
**G01N 33/577** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

<p>(21) Номер заявки: <b>а 2010 05156</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>29.10.2008</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>10.07.2012</b></p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>60/984,910</b></p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>02.11.2007</b></p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>US</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>12.07.2010, Бюл.№ 13</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.07.2012, Бюл.№ 13</b></p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>PCT/US2008/081493, 29.10.2008</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Цай Юйпін Ентоні (US), Гейтлі Денніс Патрік (US), Хе Лухун (US), Льюнг Донмайєнн Дон (US), Луань Пен (US), Свенсон Барбара Енн (US), Тань Їнь (US), Уїтчер Деррік Райан (US)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ, Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285 (US)</b></p> <p>(74) Представник: <b>Шляховецький Олександр Михайлович, реєстр. №21</b></p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: US 2006019339 A1, 26.01.2006. US 2007224186 A1, 27.09.2007. US2004096987 A1, 20.05.2004. WO 2008097461 A, 14.08.2008. TOMOSUGI NAOHISA ET AL: "Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System" BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 108, no. 4, 18 April 2006 (2006-04-18), pages 1381-1387, XP002474868 ISSN: 0006-4971. KEMNA ERWIN H J M ET AL: "Hepcidin: from discovery to differential diagnosis" HAEMATOLOGICA, FONDAZIONE FERRATA STORTI, ROME, IT, vol. 93, no. 1, 1 January 2008 (2008-01-01), pages 90-97, XP002502643 ISSN: 0390-6078. KOLIARAKI VASILIKI ET AL: "A novel immunological assay for hepcidin quantification in human serum." PLOS ONE 2009, vol. 4, no. 2, 2009, page e4581, XP009113283 ISSN: 1932-6203.</p>
--	---

**(54) АНТИТІЛО ПРОТИ ГЕПСИДИНУ ТА ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ**

UA 98983 C2

---

**(57)** Реферат:

Винахід належить до ізолюваного антитіла, яке зв'язує людський гепсидин-25 з високою афінністю, полінуклеотиду, що його кодує, вектора, клітини-хазяїна, способу одержання антитіла. Винахід також належить до фармацевтичної композиції, що містить дане антитіло, застосуванню антитіла для лікування анемії, способу підвищення сироваткового заліза та набору для проведення імунологічного аналізу.

Цей винахід належить до галузі медицини, зокрема, стосується антитіл проти зрілого людського гепсидину. Конкретніше, цей винахід стосується селективних моноклональних антитіл проти гепсидину-25, які є здатними до нейтралізування біологічної активності зрілого людського гепсидину, а отже є придатними для підвищення рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну та/або гематокриту у людини з метою лікування або запобігання захворювання, стану або розладу, розвиток якого стимулюється зрілим людським гепсидином, такого як анемія.

На сучасному етапі кількість прийнятних та ефективних методів лікування анемії, або анемії, спричиненої хронічними захворюваннями, є обмеженою. Зокрема, введення еритропоєтину ефективне лише у приблизно 50 % усіх пацієнтів і пов'язане з небажаними побічними ефектами. Крім того, переливання крові є небажаним через ризик зараження, інфікування та перевантаження залізом.

Вважають, що людський гепсидин, поліпептид, що експресується переважно гепатоцитами, являє собою важливий залізорегулювальний білок, який регулює, за принципом негативного зворотного зв'язку, всмоктування заліза у кишечнику, рециркуляцію заліза макрофагами та мобілізацію заліза з печінкових депо заліза. Виявлено, що надпродуктування гепсидину відіграє головну роль у патофізіології анемії та/або. анемії, спричиненої хронічними захворюваннями.

Людський гепсидин кодується у вигляді 84-амінокислотного препропептиду, який містить типову N-кінцеву 24-амінокислотну сигнальну послідовність, яка забезпечує доставку до ендоплазматичного ретикулуму, та 35-амінокислотну ділянку-попередник з консенсусним сайтом розщеплення фурином, безпосередньо за якою знаходиться C-кінцевий 25-амінокислотний біологічно активний залізорегуляторний гормон, людський гепсидин-25 (послідовність SEQ ID NO:1). Відомо, що *in vivo* також утворюються різні N-кінцеві скорочені форми людського гепсидину-25, такі як людський гепсидин-20 (тобто амінокислоти 6-25 послідовності SEQ ID NO:1) та людський гепсидин-22 (амінокислоти 4-25 послідовності SEQ ID NO:1).

Незважаючи на те, що раніше вже повідомлялось про антитіла проти людського гепсидину (дивись, наприклад, публікації заявок на патент США 2004/0096990 і 2007/0224186 та публікацію міжнародної заявки WO 2008/097461), у цій галузі все ще залишається велика потреба у нових лікарських засобах для лікування захворювань та розладів, що пов'язуються з анемією, у тому числі анемією, спричиненою хронічними захворюваннями, наприклад, раковою анемією та запальною анемією. Оскільки гепсидин-25 є основною, якщо не єдиною, фізіологічно відповідною формою гепсидину у людей, то існує значна потреба в антитілах, що селективно спрямовуються проти людського гепсидину-25, порівняно з гепсидиновими поліпептидами, які не є фізіологічно відповідними. Таким чином, цей винахід пропонує селективні високоафінні генноінженерні терапевтичні антитіла проти людського гепсидину-25, що мають численні переваги при лікуванні або діагностуванні розладів, пов'язаних із підвищеними рівнями зрілого гепсидину, таких як анемія. Наприклад, ці антитіла, що є високоафінними нейтралізуючими людськими генноінженерними антитілами та високоселективними відносно фізіологічно відповідних форм гепсидину у людей, будуть зменшувати ризик побічних ефектів та клінічну дозу і частоту введення, необхідні для ефективного лікування. Цей винахід охоплює також нуклеїнові кислоти, яким віддається перевага, що кодують селективні антитіла проти гепсидину-25, яким віддається перевага, причому згадані нуклеїнові кислоти були піддані генноінженерним модифікаціям для видалення криптичних сайтів сплайсингу, які зумовлюють небажане агрегування певних антитіл за цим винаходом при експресії клітинами-хазяями ссавців. Таким чином, додаткові переваги, що надаються цим винаходом, включають поліпшений вихід антитіл бажаного ступеня чистоти, завдяки чому зменшується вартість виробництва, а також більший ступінь клінічної ефективності та безпечності введення продукту, який містить антитіла.

Крім того, існуючі методи імунологічного аналізу людського гепсидину не відрізняють активних, фізіологічно відповідних форм людського гепсидину від неактивних, фізіологічно невідповідних різновидів гепсидину (дивись, наприклад, Kemna E.H., et al., *Haematologica*, 93(1):90-97 (2008)). На сучасному етапі більшість методів селективного аналізу на гепсидин-25 включають рідинну хроматографію/мас-спектроскопію (LC/MS) або подібні трудомісткі методи, які потребують розділення різних форм гепсидину (дивись, наприклад, Gutierrez J.A., et al., *BioTechniques*, 38:S13-S17 (2005), Murphy, et al., *Blood*, 110:1048-1054 (2007) та Kemna E.H., et al., *Clin. Chem.* 53:620-628 (2007)). Незважаючи на те, що ці аналізи можуть бути достовірними і точними, їх складність, вартість та необхідний високий рівень компетентності оператора значно обмежують їх повсякденне застосування. Відповідно, існує також велика потреба у нових антитілах, що з високою спорідненістю зв'язують зрілий людський гепсидин, для їх застосування у відносно простому, швидкому та надійному імунологічному аналізі для специфічного

виявлення або визначення зрілих форм людського гепсидину, прийнятному для різних варіантів діагностичного та/або прогностичного застосування.

Цей винахід пропонує антитіла, що зв'язують людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю ( $K_D$ ) на рівні приблизно 800 пМ або менше, яку визначають за допомогою поверхневого плазмонного резонансу (SPR) при температурі 25 °С. За варіантом, якому віддається перевага, згадане антитіло має швидкість дисоціації ( $k_{off}$ ) з людським гепсидином-25 від приблизно  $8,5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  до приблизно  $1,8 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ , яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °С. За варіантом, якому віддається більша перевага, згадане антитіло має зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до людського гепсидину-25 від приблизно 400 пМ до приблизно 30 пМ, яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °С. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, згадане антитіло має зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до людського гепсидину-25 від приблизно 200 пМ до приблизно 30 пМ, яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °С. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, згадане антитіло має  $IC_{50}$  від приблизно 100 нМ до приблизно 25 нМ у *in vivo* аналізі біологічної активності гепсидину-25, причому за варіантом, якому віддається перевага, за допомогою згаданого аналізу визначають індуковане IL-6 (інтерлейкін-6) зниження рівня сироваткового заліза. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, згадане антитіло має  $IC_{50}$  від приблизно 100 нМ до приблизно 50 нМ у *in vitro* аналізі біологічної активності гепсидину-25, причому за варіантом, якому віддається перевага, за допомогою згаданого аналізу визначають індуковану гепсидином інтерналізацію та/або деградацію феропортину. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, згадані антитіла містять щонайменше одну з гіперваріабельних ділянок (CDR), вибрану з групи, яку складають i) HCDR3, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:75, та ii) LCDR3, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:62.

Цей винахід стосується антитіла, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 800 пМ або менше і містить поліпептид варіабельної ділянки важкого ланцюга ("HCVR") та поліпептид варіабельної ділянки легкого ланцюга ("LCVR"), де (i) поліпептиди HCVR та LCVR мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:148 та SEQ ID NO:126, відповідно; (ii) поліпептиди HCVR та LCVR мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:128 та SEQ ID NO:127, відповідно; (iii) поліпептиди HCVR та LCVR мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:151 та SEQ ID NO:125, відповідно; або (iv) поліпептиди HCVR та LCVR мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:150 та SEQ ID NO:124, відповідно.

Цей винахід стосується антитіла, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 800 пМ або менше і містить поліпептид важкого ланцюга та поліпептид легкого ланцюга, де (i) поліпептиди важкого ланцюга і легкого ланцюга мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:6 та SEQ ID NO:14, відповідно; (ii) поліпептиди важкого ланцюга і легкого ланцюга мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:7 та SEQ ID NO:15, відповідно; (iii) поліпептиди важкого ланцюга і легкого ланцюга мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:9 та SEQ ID NO:17, відповідно; або (iv) поліпептиди важкого ланцюга і легкого ланцюга мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:8 та SEQ ID NO:16, відповідно.

Цей винахід стосується антитіла, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 800 пМ або менше і містить поліпептид LCVR, який містить 3 послідовності CDR, які є присутніми разом у будь-якому з Fab-фрагментів, перелічених у наведеній у цьому описі Таблиці 1, причому згадані послідовності CDR є присутніми у згаданому антитілі у такому самому положенні CDR, яке є представленим у Таблиці 1. За варіантом, якому віддається перевага, таке антитіло містить поліпептид LCVR, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:101-127.

Цей винахід стосується антитіла, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 800 пМ або менше і містить поліпептид HCVR, який містить 3 послідовності CDR, які є присутніми разом у будь-якому з Fab-фрагментів, перелічених у наведеній у цьому описі Таблиці 2, причому згадані послідовності CDR є присутніми у згаданому антитілі у такому самому положенні CDR, яке є представленим у Таблиці 2. За варіантом, якому віддається перевага, таке антитіло містить поліпептид HCVR, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:128-151.

Цей винахід стосується антитіла, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 800 пМ або менше і містить i) поліпептид LCVR, який містить 3 послідовності CDR, які є присутніми разом у будь-якому з Fab-фрагментів, перелічених у Таблиці 1, причому згадані послідовності CDR є присутніми у згаданому антитілі у такому самому положенні CDR, яке є представленим у Таблиці 1, та ii) поліпептид HCVR, що містить 3 послідовності CDR, які є присутніми разом будь-якому з Fab-фрагментів, перелічених у Таблиці 2, причому згадані послідовності CDR є присутніми у згаданому антитілі у такому самому положенні CDR, яке є представленим у Таблиці 2. За варіантом, якому віддається перевага, таке антитіло містить 6 CDR, які є присутніми разом будь-якому з Fab-фрагментів, перелічених у Таблиці 3, і які є присутніми у згаданому антитілі у такому самому положенні CDR, яке є представленим у Таблиці 3.

Цей винахід стосується антитіла, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 200 пМ або менше і містить (i) поліпептид LCVR, який має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:101-127, та (ii) поліпептид HCVR, який має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:128-151.

Цей винахід також стосується антитіла, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 200 пМ або менше і містить два поліпептиди важкого ланцюга та два поліпептиди легкого ланцюга, причому кожен із поліпептидів важкого ланцюга має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:8, і кожен із поліпептидів легкого ланцюга має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:16.

За іншими аспектами цей винахід пропонує ізольовані молекули нуклеїнових кислот, що кодують антитіла за цим винаходом; вектори, які містять молекули нуклеїнових кислот, що кодують антитіла за цим винаходом, причому за факультативним варіантом ці молекули функціонально зв'язані з контрольними послідовностями, які розпізнаються клітиною-хазяїном, трансформованою згаданим вектором; клітини-хазяї, які містять вектори, що містять молекули нуклеїнових кислот, що кодують антитіла за цим винаходом; спосіб одержання антитіла за цим винаходом, який включає культивування клітин-хазяїв, які містять вектори, що містять молекули нуклеїнових кислот, що кодують антитіла за цим винаходом, так що нуклеїнова кислота експресується, та факультативне виділення згаданого антитіла із середовища для культивування клітин-хазяїв.

За іншим аспектом цей винахід пропонує фармацевтичну композицію, яка містить певну кількість антитіл за цим винаходом та фармацевтично прийнятний носій або розріджувач. За варіантом, якому віддається перевага, фармацевтична композиція містить гомогенну або по суті гомогенну популяцію антитіла за цим винаходом та фармацевтично прийнятний носій або розріджувач.

За іншим варіантом здійснення цей винахід пропонує антитіло, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 800 пМ або менше, для застосування у терапії. Цей винахід пропонує також антитіло, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 800 пМ або менше, для застосування у лікуванні або запобіганні анемії у суб'єкта.

Цей винахід охоплює також застосування антитіла, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 800 пМ або менше, для виготовлення лікарського засобу для лікування анемії, у тому числі анемії хронічних захворювань та ракової анемії. Крім того, цей винахід стосується застосування антитіла, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 800 пМ або менше, для виготовлення лікарського засобу для підвищення рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну та/або гематокриту у тварини, за варіантом, якому віддається перевага, виду ссавців, за варіантом, якому віддається більша перевага, у людини.

Цей винахід охоплює спосіб підвищення рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну та/або гематокриту, який включає введення людині, яка цього потребує, ефективної кількості антитіла, що селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 800 пМ або менше.

За іншим аспектом цей винахід пропонує спосіб лікування у пацієнта розладу, розвиток якого стимулюється зрілим гепсидином, причому корисним для пацієнта є підвищення рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну та/або гематокриту, у тому числі (але без обмеження нею) анемії, наприклад, анемії, що є наслідком інфекції, запалення, хронічного захворювання та/або раку, причому згаданий спосіб включає

введення ефективної кількості селективного антитіла проти гепсидину-25 за цим винаходом пацієнту, який цього потребує.

Крім того, цей винахід пропонує імунологічний аналіз, селективний щодо зрілого людського гепсидину. Згаданий спосіб включає: по-перше, одержання зразка, призначеного для аналізу на зрілий людський гепсидин, та контактування згаданого зразка з антитілом за цим винаходом за прийнятних умов для зв'язування та надання можливості будь-якому присутньому зрілому людському гепсидину утворення комплексу антиген-антитіло; по-друге, виявлення присутності або відсутності згаданого комплексу та/або визначення кількості комплексу у зразку за допомогою методу імунологічного аналізу.

Крім того, цей винахід пропонує діагностування стану, розвиток якого стимулюється зрілим людським гепсидином, у пацієнта шляхом визначення рівня зрілого людського гепсидину у зразку біологічної рідини, одержаної від пацієнта, та порівняння рівня зрілого людського гепсидину у зразку з рівнем зрілого людського гепсидину у зразку біологічної рідини, одержаної від одного або декількох контрольних індивідів, або з еталонним стандартом.

Пропонується також спосіб моніторингу у пацієнта розладу, розвиток якого стимулюється зрілим гепсидином. Згаданий спосіб включає визначення рівня зрілого гепсидину у зразку біологічної рідини, одержаної від пацієнта, що страждає на (або належить до групи ризику) розлад, розвиток якого стимулюється зрілим гепсидином, у початковий момент часу; визначення рівня зрілого гепсидину у одному або декількох зразках біологічної рідини, одержаної від пацієнта, в один або декілька різних моментів часу; порівняння рівнів зрілого гепсидину, які були визначені у різні моменти часу, і контролювання, тим самим, розладу, розвиток якого стимулюється зрілим гепсидином. Крім того, цей винахід пропонує набір для здійснення імунологічного аналізу, який включає в себе антитіло за цим винаходом та прийнятний контейнер.

На Фіг.1 зображений мас-спектр численних форм людського гепсидину, виділених зі зразків людської сироватки, визначений за допомогою MALDI-TOF (мас-спектрометрія з іонізацією методом лазерної десорбції у матричному розчині із часопролітним аналізатором). Сигнал 1 має масу, що відповідає очікуваній масі інтактного людського гепсидину-25. Сигнал 2, сигнал 3 та сигнал 4 мають маси, що відповідають скороченим на N-кінці формам зрілого людського гепсидину (гепсидин-24, гепсидин-22 та гепсидин-20). Мас-спектр одержали за допомогою мас-спектрометра MALDI-TOF у лінійному режимі із застосуванням методу позитивних іонів з  $\alpha$ -ціано-4-гідроксикоричною кислотою (пептидна матриця) у ролі зразкової матриці, як описано у наведеному нижче Прикладі 5.

На Фіг.2 зображений мас-спектр того самого зразка, що і на Фіг.1, визначений за допомогою MALDI-TOF із застосуванням 3,5-диметил-4-гідроксикоричної кислоти (матриця на основі синапінової кислоти) у ролі зразкової матриці. Сигнал 1 відображає інтактний людський гепсидин-25. Сигналу прогепсидину не спостерігалось. Мас-спектр одержали за допомогою мас-спектрометра у лінійному режимі із застосуванням методу позитивних іонів, як описано у наведеному нижче Прикладі 5.

На Фіг.3A зображені амінокислотні послідовності повністю людського каркаса O2 легкого ланцюга, які чергуються з CDR. Чотири каркасні ділянки помічені як FRL1, FRL2, FRL3 та FRL4 (послідовності SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:96 та SEQ ID NO:97, відповідно).

На Фіг.3B зображені амінокислотні послідовності людського каркаса VH1-69 важкого ланцюга, які чергуються з CDR. Чотири каркасні ділянки помічені як FRH1-4 (послідовності SEQ ID NO:35-38, відповідно).

На Фіг.4A представлені зображені амінокислотні послідовності людського каркаса O18 легкого ланцюга, які чергуються з CDR. Чотири каркасні ділянки помічені як FRL1, FRL2, FRL3 та FRL4 (послідовності SEQ ID NO:154, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:156 та SEQ ID NO:97, відповідно).

На Фіг.4B зображені амінокислотні послідовності людського каркаса VH1-18 важкого ланцюга, які чергуються з CDR. Чотири каркасні ділянки помічені як FRH1, FRH2, FRH3 та FRH4 (послідовності SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:158 та SEQ ID NO:38, відповідно).

На Фіг.5A зображені амінокислотні послідовності людського каркаса L12 легкого ланцюга, які чергуються з CDR. Чотири каркасні ділянки помічені як FRL1, FRL2, FRL3 та FRL4 (послідовності SEQ ID NO:159, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:160 та SEQ ID NO:97, відповідно).

На Фіг.5B зображені амінокислотні послідовності людського каркаса VH1-46 важкого ланцюга, які чергуються з CDR. Чотири каркасні ділянки помічені як FRH1, FRH2, FRH3 та FRH4 (послідовності SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:161 та SEQ ID NO:38, відповідно).

У цьому описі вживають наведені нижче скорочення: CAN - ацетонітрил, BSA - бичачий сироватковий альбумін, DTT - дитіотреїтол, EDTA - етилендіамінтетраоцтова кислота, ELISA -

твердофазний імуоферментний аналіз, IMAC - афінна хроматографія з іммобілізованим іоном металу, IPTG - ізопропіл-β-D-1-тіогалактопіранозид, Mab - моноклональне антитіло, Mabs - моноклональні антитіла, MALDI-TOF - мас-спектрометрія з іонізацією методом лазерної десорбції у матричному розчині із часопротіним аналізатором, PBS - фосфатно-сольовий

5 буферний розчин, SPR - поверхневий плазмонний резонанс, TFA - трифтороцтова кислота. Усі скорочення амінокислот, що вживаються у цьому описі, являють собою скорочення, прийняті Патентним відомством США, як представлено у статті 37 Зведення федеральних постанов США (C.F.R.) § 1.822 (B) (2).

При вживанні у цьому описі термін "гепсидин" означає будь-яку форму гепсидинового білка, який, як відомо, є присутнім у організмі ссавців. При вживанні у цьому описі термін "зрілий гепсидин" означає будь-яку зрілу, біологічно активну, форму гепсидинового білка, що експресується у організмі ссавців. При вживанні у цьому описі словосполучення "людський гепсидин" означає будь-яку форму гепсидинового білка, присутню у організмі людей. При вживанні у цьому описі словосполучення "людський гепсидин-25" означає зрілу форму людського гепсидину, яка має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID

10 NO:1.

Термін "антитіло" у відношенні антитіла проти гепсидину за цим винаходом (або просто "антитіла за цим винаходом"), який вживається у цьому описі, означає людське генноінженерне моноклональне антитіло або повністю людське моноклональне антитіло, якщо не зазначено

20 інше. За варіантом, якому віддається перевага, антитіла за цим винаходом є людськими генноінженерними антитілами. Антитіла за цим винаходом можуть продукуватись за допомогою, наприклад, методів рекомбінантних ДНК, методів фагового дисплея, синтетичних методів, наприклад, пересадження CDR, або комбінацій таких методів чи інших методів, широко відомих у цій галузі. Термін "моноклональне антитіло" означає антитіло, що є похідним однієї копії або клону, у тому числі, наприклад, будь-якого еукаріотного, прокаріотного або фагового клону, а не спосіб, за допомогою якого воно продукується. Антитілом, що застосовують у цьому описі, може бути інтактне антитіло (що містить повну або непроцесовану Fc-ділянку) або частина чи фрагмент антитіла, що містить антигензв'язувальний домен, наприклад, Fab-фрагмент, Fab'-фрагмент або F(ab')<sub>2</sub>-фрагмент людського генноінженерного або повністю людського антитіла.

25 Антитіла за цим винаходом, яким віддається перевага, зберігають здатність до пригнічення або нейтралізації однієї або декількох біологічних активностей, характерних для зрілої форми гепсидину ссавців *in vivo* або *in vitro*. Наприклад, у одному з варіантів здійснення цього винаходу антигензв'язувальна ділянка антитіла за цим винаходом може пригнічувати взаємодію людського гепсидину-25 з одним або декількома рецепторами, наприклад, людським феропортином (послідовність SEQ ID NO:25), та/або може пригнічувати індуковану гепсидином інтерналізацію феропортину.

Крім того, термін "антитіло за цим винаходом" або просто "антитіло", який вживається у цьому описі, може означати одноланцюговий Fv-фрагмент, який може продукуватись шляхом з'єднання ДНК, що кодує LCVR та HCVR, з лікерною послідовністю (Дивись, Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315, 1994). Слід розуміти, що незалежно від того, чи визначаються антигензв'язувальні фрагменти або ділянки, термін "антитіло", який вживається у цьому описі, охоплює такі фрагменти або ділянки, а також одноланцюгові форми, якщо не зазначено інше.

30

Терміни "селективне" або "селективно", що вживається у цьому описі стосовно антитіла проти гепсидину-25 або стосовно його зв'язування, відповідно, мають відношення до антитіла, яке селективно зв'язує гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю K<sub>D</sub>, яка є у приблизно 1000 разів, 500 разів, 200 разів, 100 разів, 50 разів, 10 разів або у приблизно 5 разів нижчою за зв'язувальну спорідненість, з якою згадане антитіло зв'язує щонайменше одну форму-попередника гепсидину-25, та/або щонайменше одного скороченого на N-кінці різновиду зрілого гепсидину, що, як відомо, утворюється у організмі того самого виду ссавця, що визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C. На додаток до цього або альтернативно селективне антитіло проти гепсидину-25 за цим винаходом зв'язується з гепсидином-25, але не зв'язується чи зв'язується на мінімальному рівні із щонайменше однією формою-попередником гепсидину-25 та/або щонайменше одним скороченим на N-кінці різновидом зрілого гепсидину, що, як відомо, утворюється у організмі того самого виду ссавця, що визначають за допомогою імунологічного аналізу та/або мас-спектрометричних методів MALDI-TOF, що застосовуються досвідченими фахівцями у цій галузі, у тому числі (але без обмеження ним) за допомогою аналізу, опис якого наведений у представленому у цьому документі Прикладі 5. За варіантом, якому віддається перевага, селективне антитіло проти гепсидину-25 за цим винаходом зв'язує

40

45

50

55

60 людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю K<sub>D</sub>, яка є у приблизно 1000 разів, 500

разів, 200 разів, 100 разів, 50 разів, 10 разів або у приблизно - 5 разів нижчою за зв'язувальну спорідненість, з якою згадане антитіло зв'язує людський прогепсидин, за варіантом, якому віддається перевага, людський прогепсидин, який має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:34, та/або щонайменше одну скорочену на N-кінці форму зрілого людського гепсидину, що визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C. На додаток до цього або альтернативно селективне антитіло проти гепсидину-25 за цим винаходом зв'язується з людським гепсидином-25, але не зв'язується чи зв'язується на мінімальному рівні з людським прогепсидином, за варіантом, якому віддається перевага, з людським прогепсидином, який має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:34, та/або щонайменше одним скороченим на N-кінці різновидом зрілого гепсидину, що, як відомо, утворюється у організмі того самого виду ссавця, що визначають за допомогою імунологічного аналізу та/або мас-спектрометричних методів MALDI-TOF, які застосовуються досвідченими фахівцями у цій галузі, у тому числі (але без обмеження ним) за допомогою аналізу, опис якого наведений у представленому у цьому документі Прикладі 5. За варіантом, якому віддається більша перевага, селективне антитіло проти гепсидину-25 за цим винаходом зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$ , яка є у приблизно 1000 разів, 500 разів, 200 разів, 100 разів, 50 разів, 10 разів або у приблизно 5 разів нижчою за зв'язувальну спорідненість, з якою згадане антитіло зв'язує людський прогепсидин, який має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:34, та щонайменше одну скорочену на N-кінці форму зрілого людського гепсидину, що визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C. На додаток до цього або альтернативно селективне антитіло проти гепсидину-25 за цим винаходом зв'язується з людським гепсидином-25, але не зв'язується чи зв'язується на мінімальному рівні з людським прогепсидином (послідовність SEQ ID NO:34) та щонайменше одним скороченим на N-кінці різновидом зрілого гепсидину, що, як відомо, утворюється у організмі того самого виду ссавця, що визначають за допомогою імунологічного аналізу та/або мас-спектрометричних методів MALDI-TOF, які застосовуються досвідченими фахівцями у цій галузі, у тому числі (але без обмеження ним) за допомогою аналізу, опис якого наведений у представленому у цьому документі Прикладі 5. За варіантом, якому віддається найбільша перевага, селективне антитіло проти гепсидину-25 за цим винаходом i) зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$ , яка є у приблизно 1000 разів, 500 разів, 200 разів, 100 разів, 50 разів, 10 разів або у приблизно 5 разів нижчою за зв'язувальну спорідненість, з якою згадане антитіло зв'язує людський прогепсидин (послідовність SEQ ID NO:34), та ii) зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$ , яка є у приблизно 1000 разів, 500 разів, 200 разів, 100 разів, 50 разів, 10 разів або у приблизно 5 разів нижчою за зв'язувальну спорідненість, з якою згадане антитіло зв'язує людський гепсидин-20 (тобто амінокислоти 6-25 послідовності SEQ ID NO:1) та/або людський гепсидин-22 (амінокислоти 4-25 послідовності SEQ ID NO:1), що визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C. На додаток до цього або альтернативно селективне антитіло проти гепсидину-25 за цим винаходом зв'язується з людським гепсидином-25, але не зв'язується чи зв'язується на мінімальному рівні з i) людським прогепсидином (послідовність SEQ ID NO:34) та ii) людським гепсидином-20 та/або людським гепсидином-22, що визначають за допомогою імунологічного аналізу та/або мас-спектрометричних методів MALDI-TOF, які застосовуються досвідченими фахівцями у цій галузі, у тому числі (але без обмеження ним) за допомогою аналізу, опис якого наведений у представленому у цьому документі Прикладі 5.

Термін "виявляти" або "виявлення" вживається у найширшому значенні з охопленням кількісних, напівкількісних або якісних визначень цільової молекули. За одним з аспектів способи, опис яких наведений, можуть лише визначати присутність або відсутність конкретного гепсидинового поліпептиду у біологічному зразку, а отже те, що гепсидиновий поліпептид є виявним або за альтернативним варіантом невиявним у зразку, що визначають згаданим способом.

Термін "антигенна детермінанта" стосується тієї частини молекули, яку може розпізнавати та зв'язувати антитіло на одному або декількох антигензв'язувальних ділянках антитіла.

Термін "біологічна активність" стосовно антитіла за цим винаходом охоплює (але не обмежується ними) зв'язувальну спорідненість з антигенною детермінантою або антигеном, *in vivo* та/або *in vitro* стабільність антитіла, імуногенні властивості антитіла, наприклад, при введенні в організм людини, та/або здатність нейтралізувати або антагонізувати біологічну активність гепсидину, *in vivo* або *in vitro*, у тому числі (але без обмеження ним) пригнічення порушення регулювання рівня сироваткового заліза при запаленні, наприклад, у випадку провокаційної проби із введенням IL-6, наприклад, як описано у наведеному у цьому документі Прикладі 4. Вищезгадані властивості або характеристики можуть спостерігатись або



визначатись за допомогою визнаних у цій галузі методів, у тому числі (але без обмеження ними) аналізу сцинтиляційної близькості, ELISA (твердофазний імуноферментний аналіз), імунологічного аналізу ORIGIN (IGEN), гасіння флуоресценції, ELISA з флуоресцентним підсиленням, конкурентного ELISA, SPR аналізу, в тому числі (але без обмеження ним) SPR аналізу із застосуванням біосенсора BIAcore, in vitro та in vivo аналізів нейтралізації без обмеження (дивись, наприклад, WO 2006/062685), зв'язування рецепторів та імуногістохімічних методів зі зрізами тканин із різних джерел, у тому числі від людини, приматів або з будь-якого іншого джерела, у залежності від потреби.

Термін "біологічна активність" у відношенні до зрілого гепсидину, у тому числі гепсидину-25, охоплює (але не обмежується ним) специфічне зв'язування зрілого гепсидину з іншим білком, у тому числі (але без обмеження ним) з його рецептором феропортином, одну або декілька феропортин-опосередкованих функцій зрілого гепсидину, наприклад, індуковану зрілим гепсидином інтерналізацію та/або деградацію феропортину (дивись, наприклад, Nemeth E., et al., *Hepcidin Regulates Iron Efflux by Binding to Ferroportin and Inducing Its Internalization*, Science 306, 2090-2093, (2004)), регуляцію зрілим гепсидином опосередкованого феропортином відтоку заліза, рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну та/або гематокриту у людини, стабільності білка, тобто зрілий гепсидин впливає на рівень або активність іншого білка in vivo або in vitro та рівні експресії та/або тканинний розподіл гепсидину.

Термін "пригнічувати" або "нейтралізувати", який вживається у цьому описі відносно біологічної активності антитіла за цим винаходом, означає здатність до суттєвого антагонізування, перешкоджання, запобігання, стримування, уповільнення, порушення, ліквідування, припинення, зменшення або обертання на протилежну біологічної активності зрілого людського гепсидину, у тому числі (але без обмеження нею) біологічної активності зрілого людського гепсидину, як визначають у наведених у цьому описі Прикладі 3 або Прикладі 4.

Антитіла за цим винаходом відрізняються тим, що мають зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до людського гепсидину-25 менше ніж приблизно 1000 pM, за варіантом, якому віддається перевага, менше ніж приблизно 800 pM, за варіантом, якому віддається більша перевага, менше ніж приблизно 400 pM, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, менше ніж приблизно 200 pM, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, менше ніж приблизно 100 pM, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, менше ніж приблизно 75 pM або за варіантом, якому віддається найбільша перевага, менше ніж приблизно 50 pM, яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C. За варіантом, якому віддається перевага, згадане антитіло селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$ , меншою ніж приблизно 800 pM, за варіантом, якому віддається перевага, меншою ніж приблизно 400 pM, за варіантом, якому віддається більша перевага, меншою ніж приблизно 200 pM, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, меншою ніж приблизно 100 pM, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, меншою ніж приблизно 75 pM або за варіантом, якому віддається найбільша перевага, меншою ніж приблизно 50 pM, яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C, і згадане антитіло селективно зв'язує щонайменше один гепсидин-25 іншого виду, такий як гепсидин-25 макак-крабоїдів. За варіантом, якому віддається більша перевага, такі антитіла селективно зв'язують гепсидин-25 макак-крабоїдів зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$ , меншою ніж приблизно 800 pM, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, меншою ніж приблизно 400 pM, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, меншою ніж приблизно 200 pM, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, меншою ніж приблизно 100 pM, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, меншою ніж приблизно 75 pM або за варіантом, якому віддається найбільша перевага, меншою ніж приблизно 50 pM, що визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C.

До антитіл за цим винаходом належать селективні антитіла проти гепсидину-25, які мають зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до людського гепсидину-25 від приблизно 800 pM до приблизно 30 pM, за варіантом, якому віддається перевага, від приблизно 400 pM до приблизно 30 pM, за варіантом, якому віддається більша перевага, від приблизно 200 pM до приблизно 30 pM, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 100 pM до приблизно 30 pM, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 75 pM до приблизно 30 pM або за варіантом, якому віддається найбільша перевага, від приблизно 50 pM до приблизно 30 pM, яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C. За варіантом, якому віддається перевага, такі антитіла також мають зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до гепсидину-25 макак-крабоїдів від приблизно 800 pM до приблизно 10 pM, за варіантом, якому віддається більша перевага, від приблизно 400 pM до приблизно 10 pM, за варіантом, якому віддається ще більша

перевага, від приблизно 200 пМ до приблизно 10 пМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 100 пМ до приблизно 10 пМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 75 пМ до приблизно 10 пМ або за варіантом, якому віддається найбільша перевага, від приблизно 50 пМ до приблизно 10 пМ, яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C.

До антитіл за цим винаходом також належать антитіла, які мають зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до людського гепсидину-25 та/або гепсидину-25 макак-крабоїдів, яка є у щонайменше приблизно 20 разів, у щонайменше приблизно 30 разів, у щонайменше приблизно 40 разів, у щонайменше приблизно 50 разів, у щонайменше приблизно 60 разів, у щонайменше приблизно 70 разів, у щонайменше приблизно 80 разів, у щонайменше приблизно 90 разів, у щонайменше приблизно 100 разів або у щонайменше приблизно 200 разів меншою, ніж зв'язувальна спорідненість  $K_D$  згаданого антитіла до мишачого гепсидину-25 та/або пацючого гепсидину-25, що визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C.

До антитіл за цим винаходом також належать антитіла, які мають швидкість дисоціації  $k_{off}$  з людським гепсидином-25 від приблизно  $1 \times 10^{-2} \text{ c}^{-1}$  до приблизно  $1,8 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ , за варіантом, якому віддається перевага, від приблизно  $8,5 \times 10^{-3} \text{ c}^{-1}$  до приблизно  $1,8 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ , за варіантом, якому віддається більша перевага, від приблизно  $7,7 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$  до приблизно  $1,8 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ , за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно  $6,5 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$  до приблизно  $1,8 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$  або за варіантом, якому віддається найбільша перевага, від приблизно  $5,5 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$  до приблизно  $2,0 \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ , яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C. За варіантом, якому віддається перевага, таке антитіло також селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  від приблизно 800 пМ до приблизно 30 пМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 400 пМ до приблизно 30 пМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 200 пМ до приблизно 30 пМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 100 пМ до приблизно 30 пМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 75 пМ до приблизно 50 пМ, та за варіантом, якому віддається найбільша перевага, від приблизно 50 пМ до приблизно 30 пМ, яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C.

Цей винахід також охоплює антитіла, які зв'язують людський гепсидин-25, за варіантом, якому віддається перевага, селективно зв'язують, зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$ , яка дорівнює приблизно 200 пМ або менше, та нейтралізують або антагонізують щонайменше одну біологічну активність зрілого людського гепсидину *in vitro* або *in vivo*. За варіантом, якому віддається перевага, антитіло за цим винаходом має значення  $IC_{50}$  менше ніж приблизно 200 пМ, за варіантом, якому віддається більша перевага, менше ніж приблизно 100 пМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, менше ніж приблизно 75 нМ, та за варіантом, якому віддається найбільша перевага, менше ніж приблизно 50 нМ, у *in vitro* або *in vivo* аналізі біологічної активності зрілого гепсидину, як описано, наприклад, у наведеному у цьому описі Прикладі 3 або Прикладі 4.

До антитіл за цим винаходом також належать антитіла, які зв'язують, за варіантом, якому віддається перевага, селективно зв'язують, людський гепсидин-25, які значно пригнічують індуковане IL-6 зниження рівня сироваткового заліза при проведенні аналізу на макаках-крабоїдах, як описано, наприклад, у наведеному у цьому описі Прикладі 4. За варіантом, якому віддається перевага, такі антитіла пригнічують зниження рівня сироваткового заліза у макаки-крабоїда, індуковане людським IL-6 у дозі 5 мкг/кг, на щонайменше приблизно 30 %, на щонайменше приблизно 40 %, на щонайменше приблизно 50 %, на щонайменше приблизно 60 %, на щонайменше приблизно 70 %, на щонайменше приблизно 80 %, на щонайменше приблизно 90 % або на щонайменше приблизно 100 % періоду часу тривалістю приблизно 6 год. після внутрішньовенного введення антитіла у дозі приблизно 10 мг/кг.

Антитіло за цим винаходом має значення  $IC_{50}$  менше ніж приблизно 200 нМ, за варіантом, якому віддається перевага, менше ніж приблизно 100 нМ, за варіантом, якому віддається більша перевага, менше ніж приблизно 75 нМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, менше ніж приблизно 50 нМ, або за варіантом, якому віддається найбільша перевага, менше ніж приблизно 25 нМ у аналізі індукованої зрілим гепсидином інтерналізації феропортину, опис якого наведений у представленому у цьому документі Прикладі 3. За варіантом, якому віддається перевага, антитіло за цим винаходом має значення  $IC_{50}$  від приблизно 200 нМ до приблизно 25 нМ, за варіантом, якому віддається більша перевага, від приблизно 100 нМ до приблизно 50 нМ, за варіантом, якому віддається більша перевага, від приблизно 100 нМ до приблизно 25 нМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 75 нМ до приблизно 25 нМ або за варіантом, якому віддається найбільша перевага,

від приблизно 75 нМ до приблизно 50 нМ, у аналізі індукованої зрілим гепсидином інтерналізації феропортину, опис якого наведений у представленому у цьому документі Прикладі 3.

За іншим варіантом здійснення антитіло за цим винаходом має значення  $IC_{50}$  від приблизно 200 нМ до приблизно 25 нМ, за варіантом, якому віддається перевага, від приблизно 100 нМ до приблизно 50 нМ, за варіантом, якому віддається більша перевага, від приблизно 100 нМ до приблизно 25 нМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 75 нМ до приблизно 25 нМ або за варіантом, якому віддається найбільша перевага, від приблизно 75 нМ до приблизно 50 нМ, у аналізі індукованої зрілим гепсидином інтерналізації феропортину, опис якого наведений у представленому у цьому документі Прикладі 3, причому швидкість дисоціації  $k_{off}$  з людським гепсидином-25 становить від приблизно  $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$  до приблизно  $1,8 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ , за варіантом, якому віддається перевага, від приблизно  $8,5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  до приблизно  $1,8 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ , за варіантом, якому віддається більша перевага, від приблизно  $7,7 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  до приблизно  $1,8 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ , за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно  $6,5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  до приблизно  $1,8 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  або за варіантом, якому віддається найбільша перевага, від приблизно  $5,5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  до приблизно  $2,0 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ , яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C, і згадане антитіло селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  від приблизно 800 пМ до приблизно 30 пМ, за варіантом, якому віддається перевага, від приблизно 400 пМ до приблизно 30 пМ, за варіантом, якому віддається більша перевага, від приблизно 200 пМ до приблизно 30 пМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 100 пМ до приблизно 30 пМ, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 75 пМ до приблизно 50 пМ, та за варіантом, якому віддається найбільша перевага, від приблизно 50 пМ до приблизно 30 пМ, яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C.

Термін "схема нумерації, яка розроблена Кабатом", вжитий у цьому описі, є визнанням у цій галузі і стосується системи нумерації амінокислотних залишків, які є більш варіабельними (тобто гіперваріабельними) порівняно з іншими амінокислотними залишками на ділянках важких і легких ланцюгів антитіла (Kabat, et al., Ann. NY Acad. Sci. 190:382-393 (1971); Kabat, et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 (1991)).

Полінуклеотид є "функціонально зв'язаним", коли він знаходиться у функціональному зв'язку з іншим полінуклеотидом. Наприклад, промотор або енхансер є функціонально зв'язаним із кодувальною послідовністю, якщо він впливає на транскрипцію згаданої послідовності.

Терміни "суб'єкт" та "пацієнт", вжиті у цьому описі взаємозамінно, стосуються ссавця, за варіантом, якому віддається перевага, людини. За певними варіантами здійснення цього винаходу пацієнт має розлад, корисний вплив на який могло б справити зниження рівня гепсидину-25, зниження біологічної активності гепсидину-25 та/або підвищення рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну та/або гематокриту.

Термін "вектор" стосується молекули нуклеїнової кислоти, здатної до транспортування іншої нуклеїнової кислоти, з якою вона є функціонально зв'язаною, у тому числі (але без обмеження ними) плазмід та вірусних векторів. Певні вектори є здатними до автономної реплікації у клітині-хазяїні, до якої вони введені, у той час як інші вектори можуть бути інтегровані до геному клітини-хазяїна при введенні до клітини-хазяїна і, таким чином, розмножуються разом із геномом згаданого хазяїна. Більше того, певні вектори є здатними до спрямування експресії генів, з якими вони є функціонально зв'язаними. Такі вектори згадуються у цьому описі як "рекомбінантні експресійні вектори" (або просто "експресійні вектори"). Приклади векторів є добре відомими у цій галузі.

Терміни "клітина" та "клітина-хазяїн", вжиті у цьому описі, вживаються взаємозамінно і стосуються будь-якої прокаріотної клітини (наприклад, бактеріальних клітин, таких як *E. coli*) або за варіантом, якому віддається перевага, еукаріотних клітин (наприклад, дріжджових клітин, рослинних клітин, клітин комах або клітин ссавців, таких як клітини CHO (клітини яєчника китайського хом'ячка)), які знаходяться *in vitro* або *in vivo*. До клітин-хазяїв належать клітини трансформовані, трансдуковані, трансфіковані або інфіковані одним або декількома рекомбінантними експресійними векторами, які містять полінуклеотид, який кодує антитіло за цим винаходом. Клітина-хазяїн може знаходитись *in vitro* або *in vivo*. Наприклад, клітини-хазяї можуть знаходитись у трансгенній тварині або трансгенній рослині.

Кожен важкий ланцюг непроцесованого антитіла містить N-кінцеву варіабельну ділянку важкого ланцюга (у цьому описі "HCVR") та C-кінцеву константну ділянку важкого ланцюга. Кожен легкий ланцюг непроцесованого антитіла містить N-кінцеву варіабельну ділянку легкого ланцюга (у цьому описі "LCVR") та C-кінцеву константну ділянку легкого ланцюга. HCVR та LCVR можуть додатково підрозділятися на гіперваріабельні ділянки, які називають ділянками,

що обумовлюють комплементарність ("CDR"), які чергуються з більш консервативними ділянками, які називають каркасними ділянками ("FR"). На функціональну здатність антитіла до зв'язування конкретного антигену або антигенної детермінанти значний вплив чинять шість CDR, які знаходяться на варіабельній ділянці антитіла. Кожна HCVR та LCVR складається з трьох CDR (HCDR1, HCDR2 та HCDR3 у HCVR та LCDR1, LCDR2 і LCDR3 у LCVR) та чотирьох каркасних ділянок, які розміщуються у напрямку від амінокінця до карбоксильного кінця у такому порядку: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

Відповідно, термін "CDR" або "гіперваріабельна ділянка", який вживають у цьому описі, означає несуміжні антигензв'язувальні центри, що знаходяться у межах варіабельної ділянки поліпептидів як важкого, так і легкого ланцюгів. Ці конкретні ділянки були описані у Kabat, et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977), Kabat, et al., Sequences of protein of immunological interest (1991), Chothia, et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) та MacCallum, et al., J. Mol. Biol., 262:732-745 (1996), де визначення охоплюють амінокислотні залишки, що перекриваються, або субпопуляції амінокислотних залишків, при взаємному порівнянні. У цьому описі віднесення амінокислот до кожного домену відповідає добре відомим домовленостям (наприклад, Kabat (1991) та/або Chothia (1987)). CDR містять більшість залишків, що забезпечують специфічні взаємодії з антигеном.

У наведених нижче Таблиці 1 та Таблиці 2 представлені амінокислотні послідовності та консенсусні амінокислотні послідовності, що кодують CDR, яким віддається перевага, для антитіл за цим винаходом.

Таблиця 1

Fab	LCDR1	LCDR2	LCDR3
JXB7	SASSSVSSTYLH (SEQ ID NO: 26)	RTSTLAS (SEQ ID NO: 30)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
31B2	SASSSVSSTYLH (SEQ ID NO: 26)	RTSTLAS (SEQ ID NO: 30)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
Hu22	SASSRVSTYLF (SEQ ID NO: 43)	RTSTLAS (SEQ ID NO: 30)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
1	SLSSRVSTYLF (SEQ ID NO: 47)	RTSTLAS (SEQ ID NO: 30)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
2	SISSRVSTYLF (SEQ ID NO: 48)	RTSTLAS (SEQ ID NO: 30)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
3	SWSSRVSTYLF	RTSTLAS	QQWSGYPFT

Fab	LCDR1	LCDR2	LCDR3
	(SEQ ID NO: 49)	(SEQ ID NO: 30)	(SEQ ID NO: 31)
4	SAGSRVSSTYLF (SEQ ID NO: 50)	RTSTLAS (SEQ ID NO: 30)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
5	SASSRVVSTYLF (SEQ ID NO: 51)	RTSTLAS (SEQ ID NO: 30)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
6	SASSRVSTYLF (SEQ ID NO: 43)	RTSPLAS (SEQ ID NO: 53)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
7	SASSRVSTYLF (SEQ ID NO: 43)	RTSALAS (SEQ ID NO: 54)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
8	SASSRVSTYLF (SEQ ID NO: 43)	RTSWLAS (SEQ ID NO: 55)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
9	SASSRVSTYLF (SEQ ID NO: 43)	RTSTGAS (SEQ ID NO: 56)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
10	SASSRVSTYLF (SEQ ID NO: 43)	RTSTLTS (SEQ ID NO: 57)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
11	SASSRVSTYLF (SEQ ID NO: 43)	RTSTLVS (SEQ ID NO: 58)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
12	SASSRVSTYLF (SEQ ID NO: 43)	RTSTLLS (SEQ ID NO: 59)	QQWSGYPFT (SEQ ID NO: 31)
13	SASSRVSTYLF (SEQ ID NO: 43)	RTSTLAS (SEQ ID NO: 30)	QQWSGYPFV (SEQ ID NO: 61)
*Консенсусні послідовності	SX <sub>1</sub> X <sub>2</sub> SX <sub>3</sub> VSSTYLF (SEQ ID NO: 52)	RTSX <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> S (SEQ ID NO: 60)	QQWSGYPFX <sub>7</sub> (SEQ ID NO: 62)

\*X<sub>1</sub> – A, L, I або W; X<sub>2</sub> – S або G; X<sub>3</sub> – R або S; X<sub>4</sub> – T, P, A або W;

X<sub>5</sub> – L або G; X<sub>6</sub> – A, T, V або L; X<sub>7</sub> – T або V.

Таблиця 2

Fab	HCDR1	HCDR2	HCDR3
JXB7	GYTFTIYPIE (SEQ ID NO: 27)	NFHPYNGDTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 28)	GGTGSFDY (SEQ ID NO: 46)
31B2	GYTFYIYPIS (SEQ ID NO: 29)	NFHPYKGLTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 33)	GGTGSFDY (SEQ ID NO: 46)
Hu22	GYTFTIYPIS (SEQ ID NO: 32)	NFHPYLGDTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 44)	GGTGSFDY (SEQ ID NO: 46)
14	GYTFLIYPIS (SEQ ID NO: 63)	NFHPYLGDTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 44)	GGTGSFDY (SEQ ID NO: 46)
15	GYTFWIYPIS (SEQ ID NO: 64)	NFHPYLGDTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 44)	GGTGSFDY (SEQ ID NO: 46)
16	GYTFTIYPIS (SEQ ID NO: 32)	NFHPYLGTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 66)	GGTGSFDY (SEQ ID NO: 46)
17	GYTFTIYPIS (SEQ ID NO: 32)	NFHPYLGLTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 67)	GGTGSFDY (SEQ ID NO: 46)
18	GYTFTIYPIS (SEQ ID NO: 32)	NFHPYLGVTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 68)	GGTGSFDY (SEQ ID NO: 46)
19	GYTFTIYPIS (SEQ ID NO: 32)	NFHPYLGMTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 69)	GGTGSFDY (SEQ ID NO: 46)
20	GYTFTIYPIS (SEQ ID NO: 32)	NFHPYLGDTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 70)	GGTGSFDY (SEQ ID NO: 46)
21	GYTFTIYPIS	NFHPYLGDTNYNEKFKG	GGFGSFDY
Fab	HCDR1	HCDR2	HCDR3
	(SEQ ID NO: 32)	(SEQ ID NO: 44)	(SEQ ID NO: 72)
22	GYTFTIYPIS (SEQ ID NO: 32)	NFHPYLGDTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 44)	GGTGAFDY (SEQ ID NO: 73)
23	GYTFTIYPIS (SEQ ID NO: 32)	NFHPYLGDTNYNEKFKG (SEQ ID NO: 44)	GGTGSFPY (SEQ ID NO: 74)
*Консенсусні послідовності	GYTFX <sub>8</sub> IYPI X <sub>9</sub> (SEQ ID NO: 65)	NFHPYLGX <sub>10</sub> X <sub>11</sub> NYNEKF KG (SEQ ID NO: 71)	GGX <sub>12</sub> GX <sub>13</sub> FX <sub>14</sub> Y (SEQ ID NO: 75)

\*X<sub>8</sub> – T, W, Y або L; X<sub>9</sub> – S або E; X<sub>10</sub> – D, T, L, V або M; X<sub>11</sub> – T або

A; X<sub>12</sub> – T або F; X<sub>13</sub> – S або A; X<sub>14</sub> – D або P.

У наведеній нижче Таблиці 3 представлені амінокислотні послідовності та консенсусні амінокислотні послідовності, що кодують CDR, яким віддається більша перевага, для антитіл за цим винаходом.

5

Таблиця 3

Fab	LCDR1 SEQ ID NO:	LCDR2 SEQ ID NO:	LCDR3 SEQ ID NO:	HCDR1 SEQ ID NO:	HCDR2 SEQ ID NO:	HCDR3 SEQ ID NO:
1.5	43	57	61	63	80	46
1.7	43	58	61	32	81	46
1.10	43	53	61	63	82	46
1.13	43	57	61	63	83	46
1.15	43	30	61	63	82	46
3.2	43	53	61	63	84	46
3.6	43	53	61	32	84	46
3.7	43	57	61	63	85	46
3.8	43	53	31	63	84	46
3.9	43	53	61	63	86	46
3.12	43	57	61	63	84	46
3.23	43	53	61	63	85	46
Hu22	43	30	31	32	44	46
L1.5	41	53	31	63	84	46

<b>H1.39</b>	43	53	31	78	84	46
<b>*Консенсусні послідовності</b>	42	76	62	79	87	46

Константні ділянки людського легкого ланцюга класифікуються як каппа або лямбда, і легкі ланцюги відрізняються конкретною константною ділянкою, як відомо у цій галузі. Константні ділянки людського важкого ланцюга класифікуються як гамма, мю, альфа, дельта або епсилон, і визначають ізотип антитіла як IgG, IgM, IgA, IgD та IgE, відповідно, і, крім того, декілька з них можуть бути поділені на підкласи, наприклад, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>. Важкий ланцюг кожного типу має конкретну константу ділянку з послідовністю, широко відомою у цій галузі. Константна ділянка типу каппа легкого ланцюга і константні ділянки IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> та IgG<sub>4</sub> важкого ланцюга являють собою константні ділянки, яким віддається перевага, у антитілах за цим винаходом.

Константними ділянками людського важкого ланцюга, яким віддається перевага, для антитіл за цим винаходом є константні ділянки важкого ланцюга, що мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:90-94, та будь-які їх варіанти, що мають 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або приблизно 15 амінокислотних змін (у тому числі заміни, інсерції або делеції). За варіантом, якому віддається більша перевага, константними ділянками людського важкого ланцюга антитіл за цим винаходом є константні ділянки важкого ланцюга, що мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:93 та SEQ ID NO:94. За варіантом, якому віддається найбільша перевага, константною ділянкою людського важкого ланцюга антитіл за цим винаходом є константна ділянка важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:93. Константними ділянками людського легкого ланцюга, яким віддається перевага, антитіл за цим винаходом є константна ділянка легкого ланцюга типу каппа, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:89, та будь-який її варіант, що має 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 або приблизно 10 амінокислотних змін (у тому числі заміни, інсерції або делеції). За варіантом, якому віддається найбільша перевага, константною ділянкою людського легкого ланцюга антитіл за цим винаходом є константна ділянка легкого ланцюга типу каппа, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:89.

Словосполучення "антигензв'язувальна ділянка" або "антигензв'язувальна частина", яке вживається у цьому описі, стосується тієї частини молекули антитіла у межах варіабельної ділянки, що містить амінокислотні залишки, які взаємодіють з антигеном і надають згаданому антитілу його специфічність та спорідненість до антигену. Ця частина антитіла охоплює каркасні амінокислотні залишки, необхідні для підтримання відповідної конформації антигензв'язувальних залишків.

Цей винахід охоплює антитіло, яке селективно зв'язує гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю K<sub>D</sub> на рівні приблизно 800 пМ або менше, яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C, причому згадане антитіло містить щонайменше одну CDR, вибрану з групи, яку складають: i) HCDR3, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:75, та ii) LCDR3, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:62. За варіантом, якому віддається перевага, таке антитіло містить шість CDR, що містять амінокислотні та/або консенсусні амінокислотні послідовності, вибрані з групи, яку складають: (i) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, що мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:71 та SEQ ID NO:75, відповідно; та (ii) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, що мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:87 та SEQ ID NO:46, відповідно. За варіантом, якому віддається більша перевага, антитіло за цим винаходом містить шість CDR, вибраних з групи, яку складають: (i) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, що мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:84 та SEQ ID NO:46, відповідно; (ii) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, що мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:44 та SEQ ID NO:46, відповідно; (iii) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, що мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:85 та SEQ ID NO:46, відповідно; та (iv) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, що мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:84 та SEQ ID NO:46, відповідно. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, антитіло за цим винаходом містить два поліпептиди важкого ланцюга та два

поліпептиди легкого ланцюга, причому кожен з поліпептидів важкого ланцюга має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:9, і кожен з поліпептидів легкого ланцюга має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:17. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, згадане антитіло має значення  $IC_{50}$  від приблизно 100 нМ до приблизно 50 нМ у аналізі індукованої зрілим гепсидином інтерналізації феропортину, опис якого наведений у Прикладі 3, швидкість дисоціації  $k_{off}$  з людським гепсидином-25 від приблизно  $5,5 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$  до приблизно  $2,0 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ , яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C, і згадане антитіло селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  від приблизно 100 пМ до приблизно 50 пМ. За варіантом, якому віддається найбільша перевага, антитіло за цим винаходом містить два поліпептиди важкого ланцюга та два поліпептиди легкого ланцюга, причому кожен із поліпептидів важкого ланцюга має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:8, і кожен із поліпептидів легкого ланцюга має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:16, де згадане антитіло має значення  $IC_{50}$  від приблизно 100 нМ до приблизно 50 нМ у аналізі індукованої зрілим гепсидином інтерналізації феропортину, опис якого наведений у Прикладі 3, швидкість дисоціації  $k_{off}$  людським гепсидином-25 від приблизно  $5,5 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$  до приблизно  $2,0 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ , яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C, і згадане антитіло селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  від приблизно 100 пМ до приблизно 50 пМ.

Інші антитіла за цим винаходом, яким віддається перевага, містять LCVR, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:126 та SEQ ID NO:127. За варіантом, якому віддається більша перевага, антитіло за цим винаходом містить HCVR, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:148, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:150 та SEQ ID NO:151. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, антитіло за цим винаходом містить LCVR, що має послідовність SEQ ID NO:126, та HCVR, що має послідовність SEQ ID NO:148. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, антитіло за цим винаходом містить LCVR, що має послідовність SEQ ID NO:127, та HCVR, що має послідовність SEQ ID NO:128. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, антитіло за цим винаходом містить LCVR, що має послідовність SEQ ID NO:125, та HCVR, що має послідовність SEQ ID NO:151. Антитіло за цим винаходом, якому віддається найбільша перевага, містить LCVR, що має послідовність SEQ ID NO:124, та HCVR, що має послідовність SEQ ID NO:150. Такі LCVR, за варіантом, якому віддається перевага, є зв'язаними з константною ділянкою легкого ланцюга людського походження або такою, що одержана з константної ділянки легкого ланцюга людського походження, за варіантом, якому віддається перевага, людського ланцюга типу каппа, а за варіантом, якому віддається найбільша перевага, ланцюга типу каппа, що має послідовність SEQ ID NO:89. Такі HCVR за варіантом, якому віддається перевага, є зв'язаними з константною ділянкою важкого ланцюга людського походження або такою, що одержана з константної ділянки важкого ланцюга людського походження, за варіантом, якому віддається перевага, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> або IgG<sub>4</sub>, за варіантом, якому віддається більша перевага, константної ділянки важкого ланцюга, що містить амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:92, SEQ ID NO:93 та SEQ ID NO:94, а за варіантом, якому віддається найбільша перевага, константної ділянки важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність SEQ ID NO:93. За варіантом, якому віддається перевага, згадане антитіло має значення  $IC_{50}$  від приблизно 100 нМ до приблизно 50 нМ у аналізі індукованої зрілим гепсидином інтерналізації феропортину, опис якого наведений у Прикладі 3, швидкість дисоціації  $k_{off}$  з людським гепсидином-25 від приблизно  $5,5 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$  до приблизно  $2,0 \times 10^{-4} \text{ с}^{-1}$ , яку визначають за допомогою SPR при температурі 25 °C, і згадане антитіло селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  від приблизно 100 пМ до приблизно 50 пМ.

Антитіло за цим винаходом може містити поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:6, та поліпептид легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:14. Поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:6, може кодуватись полінуклеотидною послідовністю SEQ ID NO:2. Поліпептид легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:14, може кодуватись полінуклеотидом, що має нуклеїновокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:10.

Антитіло за цим винаходом містить поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:7, та поліпептид легкого ланцюга, що

має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:15. Поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:7, може кодуватись полінуклеотидною послідовністю SEQ ID NO:3. Поліпептид легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:15, може кодуватись полінуклеотидом, що має нуклеїновокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:11.

Антитіло за цим винаходом також містить поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:8, та поліпептид легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:16. Поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:8, може кодуватись полінуклеотидною послідовністю SEQ ID NO:4. Поліпептид легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:16, може кодуватись полінуклеотидом, що має нуклеїновокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:12.

За іншим варіантом здійснення антитіла за цим винаходом містить поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:9, та поліпептид легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:17. Поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:9, може кодуватись полінуклеотидною послідовністю SEQ ID NO:5. Поліпептид легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:17, може кодуватись полінуклеотидом, що має нуклеїновокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ-ID NO:13.

Людські генноінженерні антитіла за цим винаходом, яким віддається перевага, позначаються у цьому описі як моноклональні антитіла (Mab) L1.5, Hu22, 3.12 та 3.23. Амінокислотні послідовності, що кодують важкі ланцюги, легкі ланцюги, варіабельні ділянки важких і легких ланцюгів та CDR моноклональних антитіл L1.5, Hu22, 3.12 та 3.23, представлені у наведеній нижче Таблиці 4.

Таблиця 4

Mab	Важкий ланцюг	Легкий ланцюг	HCVR	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3	LCVR	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3
L1.5	6	14	148	63	84	46	126	41	53	31
Hu22	7	15	128	32	44	46	127	43	30	31
3.12	8	16	150	63	84	46	124	43	57	61
3.23	9	17	151	63	85	46	125	43	53	61

Для одержання рекомбінантного експресійного вектора, трансфікування клітин-хазяїв, відбирання трансформантів, відбирання ізольованих ліній клітин-хазяїв, що продукують антитіло за цим винаходом, культивування цих клітин-хазяїв та виділення антитіла з культурального середовища застосовують стандартні методи молекулярної біології.

Цей винахід також стосується клітин-хазяїв, що експресують антитіло проти гепсидину за цим винаходом. Найрізноманітніші експресійні системи-хазяї, відомі у цій галузі, можуть бути застосовані для експресії антитіла за цим винаходом, у тому числі прокаріотні (бактеріальні) та еукаріотні експресійні системи (наприклад, дріжджові клітини, бакуловіруси, рослинні клітини, клітини ссавців та клітини інших тварин, трансгенні тварини та клітини гібридом), а також експресійні системи, одержані з використанням технології фагового дисплея.

Антитіло за цим винаходом можна одержати шляхом рекомбінантної експресії генів легкого і важкого імуноглобулінових ланцюгів у клітині-хазяїні. Для рекомбінантної експресії антитіла клітину-хазяїна трансформують, трансдукують, інфікують тощо за допомогою одного або декількох рекомбінантних експресійних векторів, що несуть фрагменти ДНК, які кодують легкі та/або важкі імуноглобулінові ланцюги антитіла так, що згадані легкі та/або важкі ланцюги експресуються у клітині-хазяїні. Важкий ланцюг і легкий ланцюг можуть експресуватись незалежно з різних промоторів, з якими вони є функціонально зв'язаними у одному векторі, або альтернативно важкий ланцюг і легкий ланцюг можуть експресуватись незалежно з різних промоторів, з якими вони є функціонально зв'язаними у двох векторах, - один експресує важкий ланцюг, а інший експресує легкий ланцюг. За факультативним варіантом важкий ланцюг і легкий ланцюг можуть експресуватись у різних клітинах-хазяях.

Крім того, рекомбінантний експресійний вектор може кодувати сигнальний пептид, що полегшує секрецію легкого та/або важкого ланцюга антитіла з клітини-хазяїна. Ген легкого



та/або важкого ланцюга антитіла може бути клонований у вектор так, що сигнальний пептид виявляється функціонально зв'язаним у межах рамки зчитування з амінокінцем гена ланцюга антитіла. Згаданий сигнальний пептид може бути імуноглобуліновим сигнальним пептидом або гетерологічним сигнальним пептидом. За варіантом, якому віддається перевага, рекомбінантні антитіла секретиються у середовище, у якому культивують клітини-хазяї, з якого згадані антитіла можуть бути виділені або від якого можуть бути очищені.

Ізольована ДНК, що кодує HCVR, може бути перетворена на ген непроцесованого важкого ланцюга шляхом функціонального зв'язування ДНК, що кодує HCVR, з молекулою іншої ДНК, що кодує константні ділянки важкого ланцюга. Послідовності генів константних ділянок важкого ланцюга, як людини так і інших ссавців, є добре відомими у цій галузі. Фрагменти ДНК, які охоплюють ці ділянки, можна одержати, наприклад, шляхом стандартної ПЛР-ампліфікації. Згадана константна ділянка важкого ланцюга може бути константною ділянкою будь-якого типу (наприклад, IgG, IgA, IgE, IgM або IgD), класу (наприклад, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> та IgG<sub>4</sub> або підкласу та будь-яким її алотиповим варіантом, як описано у роботі Kabat (supra).

Ізольована ДНК, що кодує LCVR, може бути перетворена на ген непроцесованого легкого ланцюга (а також на ген легкого ланцюга Fab-фрагмента) шляхом функціонального зв'язування ДНК, що кодує LCVR, з молекулою іншої ДНК, що кодує константну ділянку легкого ланцюга. Послідовності генів константних ділянок легкого ланцюга, як людини так і інших ссавців, є добре відомими у цій галузі. Фрагменти ДНК, які охоплюють ці ділянки, можна одержати шляхом стандартної ПЛР-ампліфікації. Константною ділянкою легкого ланцюга може бути константна ділянка типу каппа або лямбда.

Крім гена(-ів) важкого та/або легкого ланцюгів антитіла, рекомбінантний експресійний вектор за цим винаходом несе регуляторні послідовності, що контролюють експресію гена(-ів) ланцюгів антитіла у клітині-хазяїні. Термін "регуляторна послідовність" залежно від контексту охоплює промотори, енхансери та інші контрольні елементи експресії (наприклад, сигнали поліаденілування), які контролюють транскрипцію або трансляцію гена(-ів) ланцюгів антитіла. Конструювання експресійного вектора, у тому числі вибір регуляторних послідовностей, може залежати від таких факторів як вибір клітини-хазяїна, призначеної для трансформування, та рівень експресії необхідного білка. До регуляторних послідовностей, яким віддається перевага, призначених для експресії клітин-хазяїв ссавців, належать вірусні елементи, які спрямовують високі рівні експресії білка у клітинах ссавців, такі як промотори та/або енхансери, похідні від цитомегаловірусу (CMV), вакуолізуючого мавпячого вірусу 40 (SV40), аденовірусу (наприклад, головний пізній промотор аденовірусу (AdMLP)) та/або вірусу поліоми.

Крім того, рекомбінантні експресійні вектори за цим винаходом можуть нести додаткові послідовності, такі як послідовності, що регулюють реплікацію вектора у клітинах-хазяях (наприклад, точка ініціювання реплікації), та один або декілька селективних маркерних генів. Селективний маркерний ген полегшує вибір клітин-хазяїв, у які був введений вектор. Наприклад, як правило, селективний маркерний ген надає стійкість до лікарських засобів, таких як G418, гіроміцин або метотрексат, клітині-хазяїну, у яку був введений вектор. До селективних маркерних генів, яким віддається перевага, належать ген дигідрофолатредуктази (dhfr) (для застосування у клітинах-хазяях, у яких відсутня дигідрофолатредуктаза, з селекцією/ампліфікацією із застосуванням метотрексату), ген нео (для селекції із застосуванням G418) та глутамінсинтетаза (GS) у GS-негативній клітинній лінії (такій як NS0) для селекції/ампліфікації.

Для експресії легкого та/або важкого ланцюгів експресійний(-і) вектор(-и), що кодує(-ють) важкий та/або легкий ланцюги, вводять у клітину-хазяїна за допомогою стандартних методів, наприклад, шляхом електропорації, осадження фосфатом кальцію, DEAE-декстран-опосередкованої трансфекції, трансдукції, інфікування тощо. Незважаючи на теоретичну можливість експресії антитіл за цим винаходом у прокаріотних або еукаріотних клітинах-хазяях, перевага віддається еукаріотним клітинам і найбільша перевага віддається клітинам-хазяям ссавців, оскільки такі клітини з більшим ступенем ймовірності збираються і секретиють відповідним чином укладене та імунологічно активне антитіло. До одержаних від ссавців клітин-хазяїв, яким віддається перевага, для експресії рекомбінантних антитіл за цим винаходом належать клітини яєчника китайського хом'ячка (клітини CHO) [у тому числі клітини CHO, у яких відсутня дигідрофолатредуктаза, як описано у Urlaub and Chasin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220, 1980, які застосовують з селективним DHFR-маркером, наприклад, як описано у Kaufman and Sharp, J. Mol. Biol. 159:601-621, 1982], клітини міеломи NS0, клітини COS (клітини яєчника мавпи) та клітини SP2/0. Якщо рекомбінантні експресійні вектори, що кодують гени антитіла, вводять у клітину-хазяїна ссавців, антитіла продукують шляхом культивування клітин-хазяїв впродовж періоду часу достатньої тривалості для уможливлення експресії антитіла у

клітинах-хазяях, або за варіантом, якому віддається більша перевага, секреції антитіла у культуральне середовище, у якому клітини-хазяї вирощуються у відповідних умовах, відомих у цій галузі. Антитіла можуть бути виділені з клітини-хазяїна та/або культурального середовища за допомогою стандартних способів очищення.

Клітини-хазяї можуть також бути застосовані для продукування частин, або фрагментів, інтактних антитіл, наприклад, Fab-фрагментів або молекул scFv-фрагментів, за допомогою способів, що є традиційними для цієї галузі. Наприклад, бажаним може бути трансфікування клітини-хазяїна ДНК, що кодує або легкий ланцюг, або важкий ланцюг антитіла за цим винаходом. Метод рекомбінантних ДНК також може бути застосований для видалення певної частини або усієї ДНК, що кодує легкий і важкий ланцюги або будь-який з них, які не є необхідними для зв'язування з людським гепсидином-25. Термін "антитіла" за цим винаходом охоплює також молекули, експресовані з таких скорочених молекул ДНК.

Цей винахід пропонує клітину-хазяїна, що містить нуклеїновокислотну молекулу за цим винаходом. За варіантом, якому віддається перевага, клітина-хазяїн за цим винаходом містить один або декілька векторів або генно-інженерних конструкцій, що містять нуклеїновокислотну молекулу за цим винаходом. Наприклад, клітина-хазяїн за цим винаходом являє собою клітину, у яку був введений вектор за цим винаходом, причому згаданий вектор містить полінуклеотид, що кодує LCVR антитіла за цим винаходом, та/або полінуклеотид, що кодує HCVR за цим винаходом. Цей винахід пропонує також клітину-хазяїна, у яку були введені два вектори за цим винаходом; один містить полінуклеотид, що кодує LCVR антитіла за цим винаходом, а інший містить полінуклеотид, що кодує HCVR, присутній у антитілі за цим винаходом, кожний з яких є функціонально зв'язаним з енхансерними/промоторними регуляторними елементами (наприклад, одержаними з SV40, CMV, аденовірусу тощо, такими як CMV енхансерний/AdMLP промоторний регуляторний елемент або SV40 енхансерний/AdMLP промоторний регуляторний елемент) для стимулювання високих рівнів транскрипції генів.

Після завершення експресії інтактні антитіла, окремі легкі та важкі ланцюги або інші форми імуноглобулінів за цим винаходом можуть бути очищені за допомогою стандартних способів цієї галузі, у тому числі за допомогою фракціонування сульфатом амонію, іонообмінної афінної (наприклад, білок А) хроматографії з оберненою фазою, хроматографії на колонці з гідрофобною взаємодією, хроматографії на гідроксилапатитній адсорбційній колонці, гель-електрофорезу тощо. Опис стандартних способів очищення терапевтичних антитіл наведений, наприклад, у статті Feng Li, Joe X. Zhou, Xiaoming Yang, Tim Tressel and Brian Lee "Current Therapeutic Antibody Production and Process Optimization" (BioProcessing Journal, Sept./Oct. 2005). Крім того, у цій галузі відомі також стандартні способи видалення вірусів із препаратів рекомбінантно експресованих антитіл (дивись, наприклад, Gerd Kern and Mani Krishnan, "Viral Removal by Filtration: Points to Consider" (Biopharm International, Oct. 2006)). Відомо, що ефективність фільтрування для видалення вірусів із препаратів терапевтичних антитіл принаймні частково залежить від концентрації білка та/або антитіла у розчині, призначеному для фільтрування. Спосіб очищення антитіл за цим винаходом може включати стадію фільтрування для видалення вірусів з основного потоку однієї або декількох хроматографічних операцій. За варіантом, якому віддається перевага, перед фільтруванням за допомогою фармацевтичного нанофільтра для видалення вірусів, основний хроматографічний потік, що містить антитіло за цим винаходом, розбавляють або концентрують для одержання загальної концентрації білка та/або загальної концентрації антитіла на рівні від приблизно 1 г/л до приблизно 3 г/л. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, згаданим нанофільтром є нанофільтр DV20 (наприклад, Pall Corporation; East Hills, штат Нью-Йорк). Для фармацевтичного застосування перевага віддається по суті чистим імуноглобулінам з однорідністю на рівні щонайменше приблизно 90 %, приблизно 92 %, приблизно 94 % або приблизно 96 %, і найбільша перевага віддається імуноглобулінам з однорідністю на рівні від приблизно 98 % до приблизно 99 % або більше. Після завершення очищення, часткового або до рівня бажаної однорідності, стерильні антитіла можуть бути застосовані з терапевтичними цілями, як вказано у цьому описі.

Приймаючи до уваги вищенаведене обговорення, цей винахід також стосується антитіла, яке можна одержати способом, який включає стадію культивування клітин-хазяїв, у тому числі (але без обмеження ними) клітин ссавців, рослинних клітин, бактеріальних клітин, клітин трансгенних тварин або клітин трансгенних рослин, які були трансформовані полінуклеотидом або вектором, який містить молекули нуклеїнової кислоти, які кодують антитіла за цим винаходом, завдяки чому нуклеїнова кислота експресується, і факультативну стадію виділення антитіла з культурального середовища клітин-хазяїв. За варіантом, якому віддається перевага, клітина-хазяїн містить вектор, який містить молекулу нуклеїнової кислоти, що кодує поліпептид

легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, яка представлена послідовностями SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16 або SEQ ID NO:17. За варіантом, якому віддається більша перевага, клітина-хазяїн містить вектор, який містить молекулу нуклеїнової кислоти, що представлена послідовностями SEQ ID NO:12 або SEQ ID NO:13. За варіантом, якому

5

віддається ще більша перевага, трансформованою клітиною-хазяїном є клітина яєчника китайського хом'ячка, клітина мієломи NS0, клітина COS або клітина SP2/0.

Крім того, цей винахід стосується способу продукування антитіла за цим винаходом, який включає стадію трансформування клітини-хазяїна, у тому числі (але без обмеження ними) клітини ссавця, рослинної клітини, бактеріальної клітини, клітини трансгенної тварини або

10

клітини трансгенної рослини полінуклеотидом або вектором, який містить молекулу нуклеїнової кислоти, яка кодує антитіло за цим винаходом, завдяки чому нуклеїнова кислота експресується, і стадію виділення антитіла з культурального середовища клітини-хазяїна. За варіантом, якому віддається перевага, клітину-хазяїна трансформують вектором, який містить молекулу нуклеїнової кислоти, яка кодує поліпептид легкого ланцюга, який має амінокислотну

15

послідовність, яка представлена послідовностями SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16 або SEQ ID NO:17. За варіантом, якому віддається більша перевага, клітина-хазяїн трансформується вектором, який містить молекулу нуклеїнової кислоти, яка представлена послідовністю SEQ ID NO:12 або SEQ ID NO:13. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, клітиною-хазяїном є клітина яєчника китайського хом'ячка, клітина мієломи NS0,

20

клітина COS або клітина SP2/0.

Термін "ізолюваний полінуклеотид", вжитий у цьому описі, означає полінуклеотид геномного, кДНК або синтетичного походження чи певної комбінації цих варіантів, де унаслідок свого походження, згаданий ізолюваний полінуклеотид (1) не є зв'язаним з усім або частиною полінуклеотиду, у якому ізолюваний полінуклеотид знаходиться у природі, (2) є зв'язаним із

25

полінуклеотидом, з яким він не є зв'язаним у природі, або (3) не зустрічається у природі, як частина більшої послідовності.

Термін "ізолюваний білок", що згадується у цьому описі, означає, що згаданий білок (1) є вільним від принаймні деяких інших білків, з якими його можна було б знайти за нормальних обставин, (2) є по суті вільним від інших білків із того самого джерела, наприклад, із того самого

30

виду, (3) експресується клітиною іншого виду, (4) був відокремлений від щонайменше приблизно 50 % полінуклеотидів, ліпідів, вуглеводів або інших матеріалів, з якими він є зв'язаним у природі, (5) не є зв'язаним (ковалентною або нековалентною взаємодією) із

35

частинами білка, з яким "ізолюваний білок" є зв'язаним у природі, (6) є функціонально зв'язаним (ковалентною або нековалентною взаємодією) з поліпептидом, з яким він не є зв'язаним у природі, або (7) не зустрічається у природі. Такий ізолюваний білок може

40

кодуватись геномною ДНК, кДНК, мРНК або іншою РНК синтетичного походження або будь-якою їхньою комбінацією. За варіантом, якому віддається перевага, ізолюваний білок є по суті очищеним від білків або поліпептидів чи інших забруднювачів, які знаходяться у його природному середовищі, які могли б перешкоджати його застосуванню (терапевтичному, діагностичному, профілактичному, науково-дослідницькому тощо).

"Ізолюваним" антитілом є антитіло, яке було ідентифіковане та відділене від та/або виділене з певного компонента його природного середовища. Забруднювальними компонентами його природного середовища є матеріали, які б могли перешкоджати діагностичному або терапевтичному застосуванню згаданого антитіла, і до яких можуть належати ферменти, гормони та інші білкові або небілкові розчинені речовини. У варіантах здійснення, яким віддається перевага, антитіло буде очищене (1) до рівня, вищого ніж 95 % (мас.) антитіла, що визначають за методом Лоурі, а за варіантом, якому віддається найбільша перевага, вищого за 99 % (мас), (2) до рівня, достатнього для одержання щонайменше 15 залишків N-кінцевої або внутрішньої амінокислотної послідовності, за допомогою секвенатора з обертовим циліндром, або (3) до однорідності за допомогою SDS-PAGE (електрофорез у поліакриламідному гелі у присутності додецилсульфату натрію) за відновних або невідновних умов із застосуванням забарвлення кумасі синім або, за варіантом, якому віддається перевага, сріблом. Термін "ізолюване антитіло" охоплює антитіла, які знаходяться в рекомбінантних клітинах, оскільки щонайменше один із компонентів природного середовища антитіл буде

55

відсутнім.

Словосполучення "по суті чистий" або "по суті очищений", які вживають у цьому описі, означають сполуку або різновид молекули, який являє собою переважний присутній різновид молекули (тобто на мольній основі, це більш численний, ніж будь-який інший окремий присутній у композиції різновид молекули). У певних варіантах здійснення цього винаходу по суті очищеною композицією є композиція, де згаданий різновид молекули становить щонайменше

60

приблизно 50 % (на мольній основі) усіх присутніх макромолекулярних різновидів молекул. У певних варіантах здійснення по суті чиста композиція буде містити більше ніж приблизно 80 %, 85 %, 90 %, 95 % або 99 % усіх макромолекулярних різновидів молекул, присутніх у композиції. У певних варіантах здійснення згаданий різновид молекули очищають до суттєвого ступіня

5 однорідності (забруднювальні різновиди молекул не можуть бути виявлені у згаданій композиції традиційними способами виявлення), де згадана композиція складається суттєвою мірою з одного макромолекулярного різновиду молекул.

Крім того, цей винахід пропонує ізольований полінуклеотид, що кодує амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:127, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:148, SEQ ID NO:150 та SEQ ID NO:151.

10

У інших варіантах здійснення цей винахід пропонує рекомбінантний експресійний вектор, який містить полінуклеотид, що кодує амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:124, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:127, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:148, SEQ ID NO:150 та SEQ ID NO:151.

15

Словосполучення "людські генноінженерні антитіла", яке вживається у цьому описі, означає антитіло, де щонайменше одна частина має людське походження. Крім того, у значенні, вжитому у цьому описі, словосполучення "людські генноінженерні антитіла" означає специфічні антитіла, описані у цьому документі, а також додаткові антитіла, які мають подібні

20 функціональні властивості за цим винаходом, що й антитіла, описані у цьому документі, і мають каркасні ділянки, які є по суті людськими або повністю людськими, що оточують CDR, які походять із нелюдського антитіла. По суті людськими каркасами є каркаси, що мають щонайменше 80 % ідентичність послідовності з відомою людською зародковою каркасною послідовністю. За варіантом, якому віддається перевага, по суті людські каркаси мають щонайменше приблизно 85 %, приблизно 90 %, приблизно 95 % або приблизно 99 % ідентичність послідовності з відомою людською зародковою каркасною послідовністю. За варіантом, якому віддається найбільша перевага, людські генноінженерні антитіла за цим винаходом містять мінімальну послідовність, яка походить з нелюдського антитіла.

25

Наприклад, людське генноінженерне антитіло може містити частини, що походять з антитіла нелюдського походження, такого як мишаче, і частини, що походять з антитіла людського походження, з'єднані одне з одним, наприклад, хімічним шляхом, за допомогою традиційних способів (наприклад, синтетичним) або одержані у вигляді суміжного поліпептиду за допомогою методів генної інженерії. Термін "каркас", який вживається у цьому описі, при застосуванні по відношенню до варіабельної ділянки антитіла, означає усі амінокислотні залишки за межами

30 CDR у межах варіабельної ділянки антитіла. Термін "каркасна ділянка", який вживається у цьому описі, означає кожний домен каркаса, який відокремлюється гіперваріабельними ділянками (CDR). Каркасні ділянки легкого ланцюга подібним чином відокремлені кожною з CDR варіабельної ділянки легкого ланцюга. За варіантом, якому віддається перевага, варіабельна ділянка легкого ланцюга та/або варіабельна ділянка важкого ланцюга містить каркас або

40 принаймні частину каркасної ділянки (наприклад, містить 2 підділянки або 3 підділянки, такі як FR2 та FR3). За варіантом, якому віддається більша перевага, принаймні FRL1, FRL2, FRL3 або FRL4 є повністю людськими або принаймні FRH1, FRH2, FRH3 або FRH4 є повністю людськими. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, принаймні FRL1, FRL2, FRL3 або FRL4 являє собою зародкову послідовність (наприклад, людську зародкову послідовність) або містить

45 людські консенсусні послідовності для конкретного каркаса, відомі у цій галузі, та/або принаймні FRH1, FRH2, FRH3 або FRH4 являє собою зародкову послідовність (наприклад, людську зародкову послідовність) або містить людські консенсусні послідовності для конкретного каркаса. У варіантах здійснення, яким віддається перевага, антитіло за цим винаходом містить людські зародкові каркасні послідовності легкого ланцюга та людські зародкові каркасні

50 послідовності важкого ланцюга (дивись, наприклад, WO 2005/005604). За варіантом, якому віддається більша перевага, людські зародкові каркаси легкого ланцюга вибрані з групи, яку складають: A11, A17, A18, A19, A20, A27, A30, L1, L11, L12, L2, L5, L6, L8, O12, O18, O2 та O8. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, людським зародковим каркасом легкого ланцюга є O2 або O18. За варіантом, якому віддається найбільша перевага, людським, зародковим каркасом легкого ланцюга є O2. Крім того, людські зародкові каркаси важкого ланцюга, яким віддається перевага, вибрані з групи, яку складають: VH2-5, VH2-26, VH2-70, VH3-20, VH3-72, VH1-24, VH1-46, VH3-9, VH3-66, VH3-74, VH4-31, VH1-18, VH1-69, VH3-7, VH3-11, VH3-15, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-48, VH4-39, VH4-59, VH5-51, VH3-73, VH1-58, VH1-3 та VH1-2. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, людським зародковим каркасом

55

важкого ланцюга є VH1-69 або VH1-18. За варіантом, якому віддається найбільша перевага, людським зародковим каркасом важкого ланцюга є VH1-69.

Людські генноінженерні антитіла, крім антитіл, які розкриті у цьому описі, що селективно зв'язують людський гепсидин-25, із функціональними властивостями за цим винаходом, можна одержати за допомогою декількох різних методик. Специфічні антитіла, розкриті у цьому описі, можуть бути застосовані як матриця або вихідне антитіло для одержання додаткових антитіл. За однією з методик гіперваріабельні ділянки (CDR) вихідного антитіла пересаджують в людський каркас, який має високий ступінь ідентичності послідовності з каркасом вихідного антитіла. Ідентичність послідовності нового каркаса буде взагалі досягати рівня щонайменше 80 %, щонайменше 85 % або щонайменше 90 % з відповідним каркасом вихідного антитіла. Результатом цього пересадження може бути зниження зв'язувальної спорідненості, порівняно з вихідним антитілом. У подібному випадку згаданий каркас може бути підданий зворотній мутації до вихідного каркаса у певних положеннях, виходячи з конкретних критеріїв, опублікованих Queen та іншими. Ідентифікація залишків для прийняття рішення щодо проведення зворотної мутації може бути здійснена таким чином: якщо амінокислота підпадає під наведену нижче категорію, каркасну амінокислоту людської зародкової послідовності, що застосовується, (каркас-акцептор) замінюють на каркасну амінокислоту з каркаса вихідного антитіла (каркас-донор):

(a) амінокислота у людському каркасі каркаса-акцептора є незвичайною для людських каркасів у цьому положенні, у той час як відповідна амінокислота у донорному імуноглобуліні є типовою для людських каркасів у цьому положенні;

(b) положення амінокислоти є безпосередньо прилеглим до однієї з CDR; або

(c) будь-який атом бічного ланцюга каркасної амінокислоти знаходиться на відстані приблизно 5-6 ангстремів (міжцентрова відстань) від будь-якого атому амінокислоти CDR у тривимірній моделі імуноглобуліну [Queen, et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA 88, 2869 (1991)].

Якщо кожна з амінокислот у людському каркасі каркаса-акцептора та відповідна амінокислота у каркасі-донорі є загалом незвичайною для людських каркасів у цьому положенні, така амінокислота може бути замінена на амінокислоту, типову для людського каркаса у цьому положенні. Цей критерій зворотної мутації надає можливість відновлення активності вихідного антитіла.

Іншою методикою була б довільна мутація пересаджених CDR без зміни каркаса і відбір таких антитіл за зв'язувальною спорідненістю, які є такими самими або кращими за вихідне антитіло. Крім того, можливими є комбінації обох цих методик. Після пересадження специфічні каркасні ділянки можуть бути піддані зворотній мутації на додаток до здійснення змін у CDR. Ця загальна методика описана у статті Wu, et al., (1999), "Humanization of a murine monoclonal antibody by simultaneous optimization of framework and CDR residues", J. Mol. Biol., 294:151-162.

Термін "донор", який вживається у цьому описі, означає молекулу вихідного антитіла або його фрагмент, виділену з яких частину передають або додають до молекули іншого антитіла або його фрагмента для того, щоб перенести структурні або функціональні характеристики вихідної молекули на молекулу-одержувача. У конкретному прикладі пересадження CDR вихідна молекула, з якої одержують пересаджувані CDR, є молекулою-донором. Донорні CDR переносять зв'язувальну спорідненість вихідної молекули на молекулу-одержувача. Слід розуміти, що молекула-донор не повинна походити від виду, що відрізняється від виду молекули-одержувача або її фрагмента. Замість цього, достатньою умовою є те, що донор являє собою окрему та відмінну молекулу.

Термін "акцептор", який вживається у цьому описі, означає молекулу антитіла або його фрагмент, призначені для приймання частини, наданої від вихідної молекули-донора або її фрагмента. Молекулі антитіла-акцептора або її фрагментові таким чином надаються структурні або функціональні характеристики наданої частини вихідної молекули. У конкретному прикладі пересадження CDR молекула-одержувач, на яку переносяться CDR, є молекулою-акцептором. Акцепторна молекула антитіла або її фрагмент наділяється зв'язувальною спорідненістю донорних CDR або вихідної молекули. Як і у випадку з молекулою-донором, зрозуміло, що молекула-акцептор не повинна походити від виду, що відрізняється від виду донора.

Словосполучення "варіабельна ділянка" при застосуванні по відношенню до антитіла або його важкого чи легкого ланцюга означає амінокінцеву частину антитіла, яка надає молекулі властивості зв'язування антигену і яка не є константною ділянкою. Згаданий термін охоплює її функціональні фрагменти, які зберігають певну частину зв'язувальної функції усієї варіабельної ділянки. Таким чином, термін "зв'язувальні фрагменти гетеромерної варіабельної ділянки" означає щонайменше одну варіабельну ділянку важкого ланцюга і щонайменше одну варіабельну ділянку легкого ланцюга або їх функціональні фрагменти, зібрані у гетеромерний

комплекс. До зв'язувальних фрагментів гетеромерної варіабельної ділянки належать, наприклад, такі функціональні фрагменти як Fab, F(ab)2, Fv, одноланцюговий Fv (scFv) тощо. Такі функціональні фрагменти добре відомі фахівцям у цій галузі. Відповідно, вживання цих термінів при описуванні функціональних фрагментів гетеромерної варіабельної ділянки відповідає визначенням, добре відомим фахівцям у цій галузі. Такі терміни описані у, наприклад, Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York (1989); Molec. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (Myers, R.A. (ed.), New York: VCH Publisher, Inc.); Huston et al., *Cell Biophysics*, 22:189-224 (1993); Plückthun and Skerra, *Meth. Enzymol.*, 178:497-515 (1989) та у Day E.D., *Advanced Immunochimistry*, Second Ed., Wiley-Liss, Inc., New York, NY (1990).

За варіантом, якому віддається перевага, людське генноінженерне антитіло має гіперваріабельні ділянки (CDR), що походять з або які одержують із вихідного антитіла, тобто нелюдського антитіла, за варіантом, якому віддається перевага, мишачого антитіла або його фрагмента, такого як мишаче Fab JXB7, у той час як каркасна та константна ділянка, до тієї міри, у якій вона є присутньою (або її значна або суттєва частина, тобто щонайменше приблизно 90 %, 92 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 %), кодуються інформацією з нуклеїновокислотної послідовності, яка знаходиться у людській зародковій імуноглобуліновій ділянці (дивись, наприклад, International ImMunoGeneTics Database) або у її рекомбінованій чи мутованій формах, незалежно від того, продукуються чи ні згадані антитіла у людській клітині. За варіантом, якому віддається перевага, щонайменше дві, три, чотири, п'ять або шість гіперваріабельних ділянок людського генноінженерного антитіла оптимізуються з гіперваріабельними ділянками нелюдського вихідного антитіла, з якого було одержано людське генноінженерне антитіло, для одержання бажаної властивості, наприклад, поліпшеної специфічності, спорідненості або нейтралізації, яка може бути ідентифікована відбірковим аналізом, наприклад, ELISA. За варіантом, якому віддається перевага, антитіло за цим винаходом містить HCDR3, що є ідентичною HCDR3 вихідного мишачого Fab JXB7 (тобто послідовність SEQ ID NO:46), а HCDR1, HCDR2, LCDR1, LCDR2 та LCDR3 містять щонайменше одну амінокислотну заміну, при порівнянні з амінокислотою, присутньою у вихідному мишачому Fab JXB7. Певні амінокислотні заміни у гіперваріабельних ділянках людських генноінженерних антитіл за цим винаходом, порівняно з амінокислотами вихідного мишачого Fab JXB7, зменшують ймовірність нестабільності антитіла (наприклад, видалення одного або декількох залишків Asn CDR) або зменшують ймовірність імунотоксичності антитіла при введенні людині (наприклад, як прогнозується методом IMMUNOFILTER™ (фірма Xencor, Inc., Monrovia, штат Каліфорнія)).

Людські генноінженерні антитіла можуть бути піддані *in vitro* мутагенезу за методами, загальноприйнятими у цій галузі, і таким чином амінокислотні послідовності каркасних ділянок HCVR та LCVR людських генноінженерних рекомбінантних антитіл являють собою послідовності, які хоча й одержані з послідовностей, споріднених із людськими зародковими послідовностями HCVR та LCVR, можуть не існувати за природних умов у межах людського зародкового набору антитіл *in vivo*. Передбачається, що такі амінокислотні послідовності каркасів HCVR та LCVR людських генноінженерних рекомбінантних антитіл є на щонайменше приблизно 85 %, приблизно 90 %, приблизно 92 %, приблизно 94 %, приблизно 95 %, приблизно 96 %, приблизно 98 % або за варіантом, якому віддається більша перевага, щонайменше приблизно 99 %, або за варіантом, якому віддається найбільша перевага, 100 % ідентичними до людської зародкової послідовності. Відповідно, людські генноінженерні антитіла можуть містити залишки, яких не знаходять ні у антитілі-реципієнті, ні у CDR або каркасних послідовностях, імпортованих із вихідного антитіла.

У цій галузі існують численні способи одержання людських генноінженерних антитіл (дивись, наприклад, WO 2006/06046935; Queen, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:2869 (1991); Jones et al., *Nature*, 321:522 (1986); Riechmann et al., *Nature*, 332:323-327 (1988); та Verhoeven et al., *Science*, 239:1534 (1988)). Наприклад, людські генноінженерні антитіла можуть бути продуковані шляхом одержання нуклеїновокислотних послідовностей, що кодують HCVR та LCVR вихідного антитіла (наприклад, мишачого антитіла або антитіла, що продукується гібридомом), яке селективно зв'язує гепсидин-25, ідентифікування гіперваріабельних ділянок у згаданих HCVR та LCVR (нелюдських) та пересадження таких нуклеїновокислотних послідовностей, що кодують CDR, на вибрані нуклеїновокислотні послідовності, що кодують людський каркас. Факультативно гіперваріабельна ділянка (CDR) може бути оптимізована шляхом довільного мутагенезу або на конкретних ділянках для заміни однієї або декількох амінокислот CDR на іншу амінокислоту перед пересадженням CDR у каркас. Альтернативно CDR може бути

оптимізована після інсерції у людський каркас за допомогою способів, доступних фахівцю у цій галузі.

Після пересадження послідовностей, що кодують CDR, на вибрані послідовності, що кодують людський каркас, одержані у результаті послідовності ДНК, що кодують послідовності людських генноінженерних варіабельних ділянок важких та легких ланцюгів, у подальшому експресують з одержанням людського генноінженерного антитіла, яке селективно зв'язує гепсидин-25. Людські генноінженерні HCVR та LCVR можуть бути експресовані як частина цілої молекули антитіла проти гепсидину-25, тобто як гібридний білок із послідовностями людського константного домену. Однак послідовності HCVR та LCVR можуть також бути експресовані за відсутності послідовностей константних ділянок із продукуванням людських генноінженерних селективних Fv-фрагментів або Fab-фрагментів проти гепсидину-25 (дивись, наприклад, Watkins J., et al., *Anal. Biochem.*, 253:37-45 (1997) та Watkins J., et al., *Anal. Biochem.* 256:169-177, (1998)).

Слід розуміти, що при застосуванні ідей цього винаходу фахівець у цій галузі може вдаватися до звичайних методів, наприклад, сайт-спрямованого мутагенезу, для заміни, додання або видалення амінокислот конкретних CDR та каркасних послідовностей, розкритих у цьому описі, і завдяки цьому одержати додаткові амінокислотні послідовності варіабельних ділянок, що є похідними послідовностей, які пропонуються у цьому описі. На конкретний сайт заміни можуть бути введені майже усі з 21 альтернативних природних амінокислот. І врешті-решт, фахівцю є доступними *in vitro* або *in vivo* методи відбору, наприклад, методи, опис яких представлений у наведеному у цьому документі Прикладі 2, для вибору амінокислотних послідовностей варіабельних ділянок для Fab-фрагментів, що мають бажану зв'язувальну спорідненість до гепсидинових поліпептидів. Подібним чином можуть бути ідентифіковані інші Fab-фрагменти, що є придатними для одержання антитіла проти гепсидину у відповідності із цим винаходом. За варіантом, якому віддається перевага, амінокислотна заміна, додання та делеція у межах каркасів обмежуються однією, двома, трьома або чотирма положеннями однієї або кожної з послідовностей каркасних ділянок (тобто FRL1, FRL2, FRL3, FRL4, FRH1, FRH2, FRH3, FRH4), розкритих у цьому описі. За варіантом, якому віддається перевага, амінокислотна заміна, додання та делеція у межах CDR обмежуються одним-трьома положеннями однієї або кожної з CDR, за варіантом, якому віддається більша перевага, у межах однієї або кожної з CDR заміну, додання та делецію здійснюють у одному або двох амінокислотних положеннях. За варіантом, якому також віддається перевага, амінокислотну заміну, додання та делецію на гіперваріабельних ділянках (CDR) варіабельної ділянки важкого ланцюга здійснюють у одному або двох амінокислотних положеннях. За варіантом, якому віддається найбільша перевага, амінокислотну заміну, додання та делецію здійснюють у одному або двох амінокислотних положеннях у межах CDRH2.

Одержані у результаті послідовності ДНК, що кодують людські генноінженерні послідовності варіабельних ділянок важкого та легкого ланцюгів, у подальшому експресують з одержанням людського генноінженерного антитіла, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 з високою спорідненістю. Людські генноінженерні HCVR та LCVR можуть бути експресовані як частина усієї молекули антитіла проти гепсидину-25, тобто як гібридний білок із людськими послідовностями константного домену.

За іншим аспектом цей винахід пропонує способи застосування антитіла за цим винаходом у відносно простих, однак високочутливих та селективних, імунологічних аналізах для виявлення і визначення зрілого гепсидину у людських тканинах та біологічних рідинах для діагностичних та прогностичних цілей.

Антитіла за цим винаходом являють собою засіб для точного виявлення та визначення кількості зрілого гепсидину у тканині або біологічній рідині людини для визначення схильності до розладів, розвиток яких стимулюється зрілим людським гепсидином, та для виявлення і діагностування таких розладів у пацієнтів, які на них страждають. Наприклад, антитіла за цим винаходом можуть бути застосовані у чутливих та надійних імунологічних аналізах, таких як ELISA (імуоферментний твердофазний аналіз), RIA (радіоімуноаналіз), аналіз імунодифузії, або імунологічний аналіз, такий як SPR. Так само, антитіла за цим винаходом є також придатними для імуногістохімічного (IHC) та імуофлуоресцентного (IF) аналізів зразків тканин або біологічних рідин. Такі аналізи можуть застосовуватись для виявлення аномальних рівнів гепсидину-25 і тим самим для діагностування розладів, розвиток яких стимулюється гепсидином-25. Конкретніше, цей винахід пропонує способи діагностування у пацієнта розладу, розвиток якого стимулюється зрілим людським гепсидином, шляхом визначення рівня зрілого людського гепсидину у зразку тканини або біологічній рідині від згаданого пацієнта і порівняння рівня зрілого людського гепсидину у зразку з рівнем зрілого людського гепсидину у відповідному

зразку від одного або декількох контрольних індивідів або з еталонним стандартом, із визначенням таким чином розладу, пов'язаного з підвищеними рівнями зрілого людського гепсидину. Хворобливий стан може охоплювати одне або декілька генетичних або негенетичних захворювань, пов'язаних зі зниженими рівнем сироваткового заліза, кількістю ретикулоцитів, кількістю еритроцитів, рівнем гемоглобіну та/або гематокритом. За варіантом, якому віддається перевага, хворобливий стан може охоплювати один або декілька розладів, пов'язаних з анемією.

Пропонується також спосіб моніторингу у пацієнта захворювання, розладу або стану, розвиток якого стимулюється зрілим людським гепсидином. Згаданий спосіб включає визначення рівня зрілого людського гепсидину у зразку тканини або біологічної рідини від пацієнта, що страждає на (або належить до групи ризику) захворювання, розлад або стан, розвиток якого стимулюється зрілим людським гепсидином, у перший момент часу; визначення рівня зрілого людського гепсидину у одному або декількох зразках тканини або біологічної рідини від пацієнта в один або декілька різних моментів часу; порівняння рівнів зрілого людського гепсидину, які були визначені у різні моменти часу, і контролювання тим самим захворювання або стану, розвиток якого стимулюється зрілим людським гепсидином.

Селективні антитіла проти зрілого людського гепсидину за цим винаходом є особливо придатними при застосуванні у високопродуктивних способах. До таких способів належать способи із застосуванням мікрочипів та біочипів, за допомогою яких багато зразків можуть бути перевірені на мікропланшеті або предметному склі чи інших аналітичних субстратах, відомих у цій галузі.

Присутність зрілого людського гепсидину або його рівень у біологічному зразку можуть бути встановлені шляхом об'єднання біологічного зразка з, наприклад, антитілом за цим винаходом, за умов, придатних для утворення комплексу антиген-антитіло. Згадане антитіло безпосередньо або, за варіантом, якому віддається більша перевага, опосередковано мітять виявним складником для полегшення виявлення зв'язаного або незв'язаного антитіла. У цій галузі добре відомими є численні способи виявлення утворення імунного комплексу, наприклад, ELISA, RIA, імуноблотинг (наприклад, дот-блотинг, слот-блотинг, вестерн-блотинг), методи непрямой імунофлуоресценції та способи, які полягають у виявленні змін фізичних параметрів, такі як SPR тощо. До таких варіантів застосування належать способи, в яких використовують селективне антитіло проти гепсидину-25 за цим винаходом, кон'юговане з виявним складником для виявлення гепсидину у біологічному зразку, наприклад, у людській біологічній рідині або у клітинному чи тканинному екстракті. Антитіла за цим винаходом можуть бути застосовані у таких аналізах з або без модифікування виявним складником. При модифікуванні виявним складником, антитіла за цим винаходом можуть бути модифіковані шляхом ковалентного або нековалентного приєднання виявного складника. Термін "виявний", який вживають у цьому описі, описує ознаку речовини (кон'югату, сполуки або складника), яка дозволяє ідентифікувати або відслідковувати речовину за допомогою детектора із застосуванням відомих аналітичних методів. Репрезентативними прикладами виявних складників є (без обмеження ними) хромофори, флуоресцентні складники, фосфоресцентні складники, люмінесцентні складники, радіоактивні складники, різні ферменти (наприклад, лужна фосфатаза або пероксидаза з хрому), магнітні складники (наприклад, діамантні, парамагнітні та феромагнітні матеріали) та кластери важких металів, а також будь-які інші відомі виявні складники. Кількісне визначення стандартних утворених комплексів антиген-антитіло може бути здійснене різними способами, відомими у цій галузі, такими як, наприклад, фотометричні або колориметричні засоби. За варіантом, якому віддається перевага, антитіла за цим винаходом застосовують без модифікування, тобто опосередкованого мічення, способами, добре відомими у цій галузі.

Цей винахід пропонує спосіб виявлення зрілого людського гепсидинового білка у біологічному зразку, який включає інкубування антитіла за цим винаходом з біологічним зразком за умов і впродовж періоду часу достатньої тривалості для надання можливості згаданому антитілу зв'язування зі зрілими людськими гепсидиновими білками та виявлення згаданого зв'язування.

Цей винахід пропонує також композиції, способи та набори для перевірки зразків, які підозрюють на вміст зрілих людських гепсидинових поліпептидів. Така перевірка може бути здійснена на зразках від пацієнта або лабораторних зразках, які підозрюють на вміст або продукування таких поліпептидів. Набір може включати в себе селективне антитіло проти гепсидину-25 за цим винаходом. Набір може включати в себе відповідний буфер та реактиви для виявлення взаємодії між зразком та селективним антитілом проти гепсидину-25 за цим винаходом. Запропонований реактив може являти собою речовину з радіоактивною міткою,



флуоресцентною міткою або ферментативною міткою, здатну до зв'язування або взаємодії з антитілом за цим винаходом, наприклад, антимишачим IgG антитілом.

Згаданий реактив набору може бути наданий у вигляді рідкого розчину, нанесеного на тверду основу або у вигляді сухого порошку. Якщо згаданий реактив наданий у вигляді рідкого розчину, за варіантом, якому віддається перевага, згаданий рідкий розчин являє собою водний розчин. За варіантом, якому віддається перевага, якщо наданий реактив є нанесеним на тверду основу, то згаданою твердою основою може бути хроматографічне середовище, експериментальний планшет із певною кількістю лунок або предметне скло. Якщо наданий реактив являє собою сухий порошок, згаданий порошок може бути відновлений доданням відповідного розчинника, який також може бути наданий у складі набору.

Набір за цим винаходом запропонований у контейнері, який, як правило, включає в себе флакони, у яких можуть бути розміщені антитіло, антиген або реактив для виявлення, за варіантом, якому віддається перевага, поділені на відповідні аліквоти. Набори за цим винаходом будуть, як правило, включати в себе також засоби для вміщення контейнерів з антитілом, антигеном та реактивом для комерційного продажу. Такими контейнерами можуть бути пластикові контейнери, у яких розміщують необхідні флакони та один або декілька необхідних хімікатів, таких як хроматографічний матеріал, розчинники та елюенти, культури бактерій на живильному середовищі, детергенти, антитіла та хімікати для реакції виявлення.

Антитіло за цим винаходом може бути застосоване для діагностування розладу або захворювання, пов'язаних з активністю зрілого гепсидину. Подібним чином, антитіло за цим винаходом може бути застосоване у аналізі для моніторингу рівня зрілого гепсидину у суб'єкта, якого піддають лікуванню з приводу стану, захворювання або розладу, розвиток якого стимулюється зрілим гепсидином. До таких варіантів застосування належать способи, в яких використовують антитіло за цим винаходом та мітку для виявлення зрілого гепсидину у біологічному зразку, наприклад, у загальній воді організму людини або у клітинному чи тканинному екстракті. Антитіла за цим винаходом можуть бути застосовані з модифікацією або без неї і можуть бути мічені шляхом ковалентного або нековалентного приєднання виявного складника.

У цій галузі відомі різноманітні традиційні методики визначення рівнів білка у біологічному зразку, у тому числі, наприклад, ELISA, RIA та FACS (клітинний сортер зі збудженням флуоресценції), які становлять основу для діагностування змінених або аномальних рівнів експресії зрілого гепсидину. Нормальні або стандартні рівні гепсидину, присутнього у зразку, встановлюють за допомогою будь-якого відомого способу, наприклад, шляхом об'єднання зразка, що містить зрілий гепсидиновий поліпептид, з, наприклад, антитілом за цим винаходом, за умов, придатних для утворення комплексу антиген: антитіло. Антитіло безпосередньо або опосередковано мітять виявну речовину для полегшення виявлення зв'язаного або незв'язаного антитіла. До числа прийнятих виявних речовин належать різні ферменти, простетичні групи, флуоресцентні матеріали, люмінесцентні матеріали та радіоактивні матеріали. Кількісне визначення утворених стандартних комплексів здійснюють різними способами, наприклад, за допомогою фотометричних засобів. Після цього кількість зрілого гепсидинового поліпептиду, присутнього у зразках, порівнюють зі стандартними значеннями. Антитіло, якому віддається перевага, для застосування у діагностичних, прогностичних та/або моніторингових аналізах, наборах та способах має (i) поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:6, і поліпептид легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:14; (ii) поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:7, і поліпептид легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:15; (iii) поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:9, і поліпептид легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:17; або (iv) поліпептид важкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:8, і поліпептид легкого ланцюга, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:16.

Ізольоване селективне антитіло проти гепсидину-25 за цим винаходом може бути застосоване для лікування, за варіантом, якому віддається перевага, для лікування людей.

Фармацевтична композиція, що містить антитіло за цим винаходом, може бути застосована для підвищення рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну та/або гематокриту у людини, якщо ефективну кількість антитіла вводять людині, яка цього потребує. Крім того, антитіло за цим винаходом може бути корисним для лікування станів, захворювань або розладів, при яких присутність гепсидину-25 спричинює або додає свій

внесок до небажаних патологічних ефектів або зниження рівнів чи біологічної активності гепсидину-25 чинить сприятливий терапевтичний вплив на людей. До таких станів, захворювань або розладів належить (але без обмеження нею) анемія, у тому числі (але без обмеження нею) анемія, що є наслідком інфекції, запалення, хронічного захворювання та/або раку. Суб'єктами

5 можуть бути чоловік або жінка.

Цей винахід охоплює спосіб підвищення рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну та/або гематокриту, який включає введення людині, яка цього потребує, ефективною кількістю антитіла за цим винаходом, яке селективно зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  на рівні приблизно 800 пМ або менше.

10 На додаток до цього або альтернативно цей винахід охоплює спосіб лікування захворювання, стану або розладу у людини, причому корисним для пацієнта є підвищення рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну та/або гематокриту, у тому числі (але без обмеження нею) анемії, наприклад, анемії, яка є наслідком інфекції, запалення, хронічного захворювання та/або раку. За варіантом, якому віддається перевага, суб'єкт має або ризикує мати небажано низький рівень сироваткового заліза, низьку кількість

15 ретикулоцитів, низьку кількість еритроцитів, низький рівень гемоглобіну та/або низький гематокрит. За варіантом, якому віддається більша перевага, згаданий суб'єкт належить до групи ризику виникнення або страждає на анемію, у тому числі (але без обмеження нею) анемію, яка є наслідком інфекції, запалення, хронічного захворювання та/або раку. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, згадане антитіло містить LCVR, що містить:

20 i) LCDR1, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:41 та SEQ ID NO:43;

ii) LCDR2, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58 та

25 SEQ ID NO:76; та

iii) LCDR3, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:61 та SEQ ID NO:60; і HCVR, що містить:

i) HCDR1, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:78 та SEQ ID NO:79;

30 ii) HCDR2, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:86 та SEQ ID NO:87; і

iii) HCDR3, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:46.

За варіантом, якому віддається ще більша перевага, антитіло містить поліпептид важкого ланцюга і поліпептид легкого ланцюга, які мають: (i) амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:6 та SEQ ID NO:14, відповідно; (ii) амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:7 та SEQ ID NO:15, відповідно; (iii) амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:9 та SEQ ID NO:17, відповідно; або (iv) амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:8 та SEQ ID NO:16, відповідно. За варіантом, якому віддається найбільша перевага, антитіло містить поліпептид важкого ланцюга і поліпептид легкого ланцюга, що мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:8 та SEQ ID NO:16, відповідно.

Крім того, передбачається застосування антитіла за цим винаходом для виготовлення лікарського засобу для лікування анемії або щонайменше одного з вищезгаданих розладів. За

45 варіантом, якому віддається перевага, антитіло містить LCVR, що містить:

i) LCDR1, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:41 та SEQ ID NO:43;

ii) LCDR2, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:58 та

50 SEQ ID NO:76; і

iii) LCDR3, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:61 та SEQ ID NO:60; і HCVR, що містить:

i) HCDR1, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:78 та SEQ ID NO:79;

55 ii) HCDR2, що має амінокислотну послідовність, вибрану з групи, яку складають послідовності SEQ ID NO:44, SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:85, SEQ ID NO:86 та SEQ ID NO:87; і

iii) HCDR3, що має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:46.

За варіантом, якому віддається більша перевага, антитіло містить поліпептид важкого ланцюга і поліпептид легкого ланцюга, які мають: (i) амінокислотні послідовності, представлені

60

послідовностями SEQ ID NO:6 та SEQ ID NO:14, відповідно; (ii) амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:7 та SEQ ID NO:15, відповідно; (iii) амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:9 та SEQ ID NO:17, відповідно; або (iv) амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:8 та SEQ ID NO:16, відповідно. За варіантом, якому віддається найбільша перевага, антитіло містить поліпептид важкого ланцюга і поліпептид легкого ланцюга, які мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:8 та SEQ ID NO:16, відповідно.

Термін "лікування" (або "лікувати") має відношення до усіх процесів, у яких може спостерігатись уповільнення, переривання, зупинка, контролювання або припинення розвитку розладів, опис яких наведений у цьому документі, але не обов'язково вказує на повну ліквідацію усіх симптомів розладу. Термін "лікування", який вживають у цьому описі, передбачає введення сполуки за цим винаходом для лікування захворювання або стану у ссавця, зокрема, у людини, і охоплює: (а) пригнічення подальшого розвитку захворювання, тобто припинення його розвитку; та (б) полегшення захворювання, тобто спричинення зворотного розвитку захворювання або розладу чи полегшення тяжкості його симптомів або ускладнень. Схеми приймання лікарського засобу можуть регулюватись таким чином, щоб забезпечити оптимальну бажану реакцію (наприклад, терапевтичну реакцію). Наприклад, може бути введена разова ударна доза, впродовж певного періоду часу можуть бути введені декілька поділених доз, або доза може бути пропорційно зменшеною або збільшеною, як вказується вимогами терапевтичної ситуації.

Термін "запобігання" (або "запобігати") означає перешкоджання, стримування або пригнічення виникнення або розвитку симптому, розладу, стану або захворювання. Гострі явища та хронічні стани можуть лікуватись та запобігатись. У разі гострого явища антитіло за цим винаходом вводять на початку появи симптому, розладу, стану або захворювання, і припиняють введення після закінчення гострого явища. У протилежність до цього хронічний симптом, розлад, стан або захворювання лікують впродовж більш тривалого періоду часу.

"Розладом" є будь-який стан, сприятливий вплив на який мало б лікування за цим винаходом. Терміни "розлад", "стан" та "захворювання" вживають у цьому описі взаємозамінно, і вони охоплюють хронічні та гострі розлади, розвиток яких стимулюється зрілим гепсидином, у тому числі (але без обмеження нею) анемію, у тому числі (але без обмеження нею) анемію хронічних захворювань, у тому числі (але без обмеження нею) анемію, що є наслідком інфекції, запалення та/або раку.

Антитіло за цим винаходом може бути включене до складу фармацевтичної композиції, придатної для введення людині. Антитіло за цим винаходом може бути введене людині окремо або у комбінації з фармацевтично прийнятним носієм та/або розріджувачем у формі разової дози або декількох доз. Такі фармацевтичні композиції розробляються так, щоб бути придатними для вибраного способу введення, і фармацевтично прийнятні розріджувачі, носії та/або наповнювачі, такі як диспергувальні засоби, буфери, поверхнево-активні речовини, консерванти, солюбілізувальні засоби, засоби для регулювання ізотонічності, в тому числі (але без обмеження ним) хлорид натрію, стабілізатори тощо, застосовують відповідним чином. Такі композиції можуть бути розроблені відповідно до традиційних способів, розкритих, у, наприклад, Remington. The Science and Practice of Pharmacy, 19<sup>th</sup> Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA 1995, що являє собою довідник зі способів виготовлення лікарських форм, які загалом відомі лікарям-практикам. Відповідні носії для фармацевтичних композицій включають будь-який матеріал, який, при об'єднанні з антитілом за цим винаходом, зберігає активність молекули і не вступає у реакцію з імунною системою суб'єкта. У певних варіантах здійснення фармацевтична композиція за цим винаходом містить i) антитіло за цим винаходом, ii) цитратний буфер та iii) хлорид натрію. За варіантом, якому віддається перевага, концентрація згаданого антитіла становить від приблизно 1 мг/мл до приблизно 35 мг/мл, концентрація цитрату становить від приблизно 5 мМ до приблизно 20 мМ, концентрація хлориду натрію становить від приблизно 100 мМ до приблизно 300 мМ, і рН композиції становить від приблизно 5,0 до приблизно 7,2. За варіантом, якому віддається більша перевага, концентрація згаданого антитіла становить від приблизно 5 мг/мл до приблизно 30 мг/мл, концентрація цитрату становить від приблизно 5 мМ до приблизно 15 мМ, концентрація хлориду Натрію становить від приблизно 150 мМ до приблизно 300 мМ, і рН композиції становить від приблизно 5,5 до приблизно 6,5. За варіантом, якому віддається ще більша перевага, концентрація згаданого антитіла становить від приблизно 5 мг/мл до приблизно 25 мг/мл, концентрація цитрату становить приблизно 10 мМ, концентрація хлориду натрію становить від приблизно 200 мМ до приблизно 300 мМ, і рН композиції становить від приблизно 5,5 до приблизно 6,5.

Фармацевтична композиція, яка містить антитіло проти гепсидину-25 за цим винаходом, може бути введена суб'єкту, для якого існує ризик виникнення або який демонструє патології,

опис яких наведений, наприклад, анемічні розлади, за допомогою стандартних способів введення.

Словосполучення "ефективна кількість", яке вживають у цьому описі, означає кількість, необхідну (у дозах та для періодів часу і для засобів введення) для досягнення бажаного терапевтичного результату. Ефективна кількість антитіла може змінюватись у відповідності до таких факторів, наприклад, як хворобливий стан, вік, стать та маса індивіда, а також здатність антитіла або фрагмента антитіла викликати необхідну реакцію у індивіда. Ефективною кількістю також є кількість, при якій будь-яка токсична або шкідлива дія антитіла переважається терапевтично сприятливою дією.

Ефективна кількість являє собою принаймні мінімальну кількість, однак меншу за токсичну кількість, активного засобу, яка є необхідною для спричинення терапевтично сприятливого впливу на суб'єкта. Іншими словами, ефективною кількістю або терапевтично ефективною кількістю антитіла за цим винаходом є кількість, яка у ссавців, за варіантом, якому віддається перевага, людей (i) підвищує рівень сироваткового заліза, кількість ретикулоцитів, кількість еритроцитів, рівень гемоглобіну та/або гематокрит, або (ii) лікує розлад, при якому присутність зрілого гепсидину спричинює або сприяє виникненню небажаного патологічного ефекту, або (iii) наслідком зниження рівнів зрілого гепсидину або біологічної активності зрілого гепсидину є сприятливий терапевтичний вплив на ссавця, за варіантом, якому віддається перевага, причому згаданий розлад охоплює (але без обмеження нею) анемію, у тому числі (але без обмеження нею) анемію хронічних захворювань, у тому числі (але без обмеження нею) анемію, що є наслідком інфекції, запалення та/або раку. Ефективна кількість антитіла за цим винаходом може бути введена разовою дозою або декількома дозами. Крім того, ефективна кількість антитіла за цим винаходом може бути введена декількома дозами у кількостях, які були б меншими за ефективну кількість, якщо б їх не вводили більше одного разу.

Як добре відомо у галузі медицини, дози для будь-якого суб'єкта залежать від багатьох факторів, у тому числі розміру пацієнта, площі поверхні тіла, віку, конкретної сполуки, призначеної до введення, статі, часу та шляху введення, загального стану здоров'я пацієнта та інших лікарських засобів, які вводяться одночасно. Крім того, доза може бути змінена у залежності від типу та тяжкості захворювання. Типова доза може становити, наприклад, від приблизно 1 мг до приблизно 200 мг, за варіантом, якому віддається перевага, від приблизно 2 мг до приблизно 200 мг, за варіантом, якому віддається більша перевага, від приблизно 5 мг до приблизно 200 мг; за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 5 мг до приблизно 50 мг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 5 мг до приблизно 25 мг; за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 5 мг до приблизно 20 мг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 5 мг до приблизно 15 мг; однак передбачаються дози нижчі або вищі за цей приклад діапазону, зокрема, приймаючи до уваги вищезгадані фактори. Добова схема парентерального введення лікарського засобу може передбачати діапазон від приблизно 10 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається перевага, від приблизно 25 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається більша перевага, від приблизно 50 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 100 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 200 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 300 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 400 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 500 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 600 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, від приблизно 700 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, від приблизно 800 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, від приблизно 900 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 1 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 2 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 3 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 4 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 5 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 6 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг, за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 7 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг і за варіантом, якому віддається ще більша перевага, від приблизно 8 мкг/кг до приблизно 20 мкг/кг. Прогрес може контролюватись періодичним оцінюванням з відповідним регулюванням дози.

Ці запропоновані кількості антитіла значною мірою залежать від розсуду лікаря. Ключовим фактором у виборі відповідної дози та розробці схеми є досягнутий результат. Факторами для

розгляду у цьому контексті є конкретний розлад, який піддають лікуванню, клінічний стан окремого пацієнта, причина розладу, місце доставки антитіла, конкретний тип антитіла, спосіб введення, схема застосування лікарського засобу та інші фактори, відомі лікарям-практикам.

Шляхом введення антитіла за цим винаходом може бути пероральний, парентеральний, інгаляційний або місцевий. За варіантом, якому віддається перевага, антитіла за цим винаходом можуть бути включені до складу фармацевтичної композиції, придатної для парентерального введення. Термін "парентеральний", який вживають у цьому описі, охоплює внутрішньовенне, внутрішньом'язове, підшкірне, ректальне, вагінальне або внутрішньоочеревинне введення. Перевага віддається парентеральній доставці шляхом внутрішньовенної або внутрішньоочеревинної чи підшкірної ін'єкції. Найбільша перевага віддається підшкірній ін'єкції. Прийнятні носії для таких ін'єкцій є добре відомими у цій галузі.

Фармацевтична композиція, за типовим варіантом, повинна бути стерильною та стабільною за умов виготовлення і збереження у запропонованому контейнері, у тому числі, наприклад, у герметизованому флаконі, шприці або іншому пристрої для доставки, наприклад, шприці-ін'єкторі. Таким чином, фармацевтичні композиції можуть фільтруватись за стерильних умов після виготовлення лікарської форми, або їх мікробіологічна прийнятність може бути забезпечена іншим способом.

Наведені нижче приклади пропонуються лише з ілюстративними цілями і не призначені для обмеження обсягу цього винаходу.

#### Приклади

##### Приклад 1: Протидія людського гепсидину-25

Людський гепсидин-25 можна одержати з комерційних джерел (наприклад, від Peptide International (Louisville, Kentucky)) або продукувати за допомогою цілого ряду синтетичних або рекомбінантних способів, відомих у цій галузі. Альтернативно гібридний білок, що містить двадцять п'ять амінокислот послідовності людського гепсидину-25 і має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:95, експресується *E. coli*. Тільця включення виділяють з 3 л *E. coli*, що експресує людський гепсидиновий гібридний білок, після 3-6 год. індукування 1 мМ розчином IPTG при температурі 37 °C. Тільця включення солюбілізують у буфері А (50 мМ розчин трис та 8 М розчин сечовини (pH 8,0)). Супернатант пропускають через колонку IMAC (20 мл смоли). Колонку промивають буфером А, доки показник оптичної густини не повернеться до вихідного значення, і зв'язані поліпептиди елюються порціями з колонки за допомогою 0,5 М розчину імідазолу у буфері А. Гібридний білок людського гепсидину-25 змішують і відновлюють за допомогою 50 мМ розчину DTT. Після цього цей гібридний білок повторно укладають шляхом розведення змішаного матеріалу у 2 М розчині сечовини, 3 мМ розчині цистеїну, 50 мМ розчині трис (pH 8,0) до кінцевої концентрації білка, меншої за 50 мкг/мл. Цей матеріал перемішують при кімнатній температурі, і окиснюють киснем повітря впродовж 48 год. Окиснені поліпептиди пропускають через колонку IMAC (20 мл) при швидкості потоку 5 мл/хв, і гібридний білок людського гепсидину-25 елюють порціями з колонки за допомогою 0,5 М розчину імідазолу у буфері А. Змішані фракції, що містять гібридний білок людського гепсидину-25, концентрують і пропускають через роздільну колонку Superdex 75 (GE Healthcare, XK26/60), врівноважену 50 мМ розчином трис, 4 М розчином сечовини, pH 8,0, при швидкості потоку 3 мл/хв. Мономерний гібридний білок змішують, після чого розбавляють 50 мМ розчином трис, 2 М розчином сечовини, 5 мМ розчином CaCl<sub>2</sub>, pH 8,0, після чого розщеплюють ентерокиназою для одержання людського гепсидину-25, що має послідовність SEQ ID NO:1. Нерозщеплений гібридний білок людського гепсидину-25 видаляють шляхом хроматографування пасивним методом на колонці IMAC (як описано вище). Після цього потік із колонки IMAC пропускають через хроматографічну колонку C-18 з оберненою фазою зі швидкістю потоку 4,0 мл/хв. Колонку промивають 0,1 % розчином TFA у воді, доки показник оптичної густини не повернеться до вихідного значення, і зв'язані поліпептиди елюють із колонки лінійним градієнтом ACN від 20 % до 40 % з 0,1 % розчином TFA при швидкості 0,5 %/хв. Фракції, що містять поліпептид людського гепсидину-25, змішують і аналізують шляхом секвенування N-кінцевих амінокислот та за допомогою мас-спектрометрії з іонізацією методом лазерної десорбції у матричному розчині (MALDI-MS). Поліпептиди, що кодують гепсидин-25 пацюків, мишей та макак-крабодідів, і різні скорочені на N-кінці форми людського гепсидину-25, у тому числі гепсидин-22 та гепсидин-20, були одержані комерційним шляхом (наприклад, від Peptide International).

Приклад 2: Визначення афінного зв'язування Fab-фрагментів та моноклональних антитіл проти гепсидину-25

Для визначення кінетики та спорідненості зв'язування антитіл, розкритих у цьому описі, може бути застосований біосенсор на основі поверхневого плазмонного резонансу, наприклад,

BIAcore® TI 00. Система BIAcore® використовує оптичні властивості SPR для виявлення змін білкової концентрації молекул, які взаємодіють, у межах декстранової біосенсорної матриці. Якщо конкретно не зазначено інше, усі реактиви та матеріали закуповуються від BIAcore® AB (Uppsala, Sweden). Усі визначення здійснюють при температурі 25 °C. Зразки розчиняють у буфері HBS-EP (150 mM натрію хлориду, 3 mM EDTA, 0,05 % (у відношенні маси до об'єму) поверхнево-активної речовини P-20 та 10 mM HEPES, pH 7,4). Для захоплення Fab-фрагментів із людським ланцюгом типу каппа, козячий антилюдський ланцюг типу каппа іммобілізують на протокових кюветах 1-4 сенсорного чипа CM5 на рівні 5000-10000 реакційних одиниць (Rus) за допомогою набору для зв'язування аміних груп. Для захоплення моноклональних антитіл (Mab) з мишачим IgG1, козячий антимишачий Fc-фрагмент гамма іммобілізують на протокових кюветах 1-4 сенсорного чипа CM5 на рівні 5000-10000 реакційних одиниць за допомогою набору для зв'язування аміних груп. Для захоплення антитіл із людським IgG4, білок A іммобілізують на протокових кюветах 1-4 сенсорного чипа CM4 на рівні 400-700 реакційних одиниць за допомогою набору для зв'язування аміних груп. Fab-фрагменти, одержані з периплазми *E. coli*, та моноклональні антитіла (Mab), одержані з клітинної культури ссавців, оцінюють за допомогою численних аналітичних циклів. Кожен цикл складається з наведених нижче стадій: 0,3-2 хв введення Fab або Mab при ~10мкл/хв, спрямоване на захоплення 200-1000 реакційних одиниць, 2 хв введення при 50 мкл/хв різних концентрацій людського гепсидину-25 (від 600 нМ до 0,1 нМ), який одержали, як описано у наведеному вище Прикладі 1, з подальшими 2-10 хв для дисоціації, і регенерація за допомогою 30 мкл 10 mM розчину гліцину гідрохлориду, pH 1,5. Вимірювання здійснюють при температурі 25 °C, а швидкість асоціації та дисоціації для кожного циклу визначають за допомогою моделі зв'язування "1:1 з масопередачею" у програмному забезпеченні BIAevaluation.

Параметри зв'язування людського гепсидину-25 мишачим Fab JXB7 та певними людськими генноінженерними Fab-фрагментами проти гепсидину наведені у Таблиці 5. Було визначено, що значення зв'язувальної спорідненості ( $K_D$ ) людського гепсидину-25 до інших людських генноінженерних Fab-фрагментів, наведених у Таблиці 3, становлять від приблизно 214 пМ до приблизно 54 пМ, де кожен мав швидкість дисоціації  $K_{off}$  з людським гепсидином-25 від приблизно  $7,68 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  до приблизно  $2,22 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ . Таким чином, були визначені людські генноінженерні Fab-фрагменти проти гепсидину, які мають зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до людського гепсидину-25 у приблизно 52 рази меншу ніж зв'язувальна спорідненість мишачого Fab JXB7. Людські генноінженерні Fab-фрагменти проти гепсидину, наведені у Таблиці 5, містять людські зародкові каркаси O2 та VH1-69 легкого та важкого ланцюгів, відповідно.

Таблиця 5

## Властивості зв'язування з людським гепсидином-25

Fab	$K_{on} (M^{-1}, s^{-1})$	$K_{off} (s^{-1})$	$K_D (M)$
JXB7	$2,49 \times 10^6$	$6,98 \times 10^{-3}$	$2,80 \times 10^{-9}$
Hu22	$7,05 \times 10^6$	$4,56 \times 10^{-3}$	$6,47 \times 10^{-10}$
1.7	$3,80 \times 10^6$	$1,48 \times 10^{-3}$	$4,22 \times 10^{-10}$
3.12	$3,94 \times 10^6$	$3,47 \times 10^{-4}$	$8,83 \times 10^{-11}$
3.23	$3,53 \times 10^6$	$2,78 \times 10^{-4}$	$7,88 \times 10^{-11}$

Параметри зв'язування людського гепсидину-25 мишачим моноклональним антитілом JXB7 та певними людськими генноінженерними моноклональними антитілами проти гепсидину наведені у Таблиці 6. Таким чином, були визначені людські генноінженерні моноклональні антитіла проти гепсидину, які мають зв'язувальну спорідненість ( $K_D$ ) до людського гепсидину-25 у приблизно 33 рази меншу ніж зв'язувальна спорідненість мишачого моноклонального антитіла JXB7. Константними ділянками важкого ланцюга для моноклональних антитіл JXB7 та 31B2 є мишачий IgG1. Константними ділянками важкого ланцюга інших моноклональних антитіл у Таблиці 6 були людські IgG4 (послідовність SEQ ID NO:94).

Таблиця 6

## Зв'язування з людським гепсидином-25

Mab	$K_{on} (M^{-1}, c^{-1})$	$K_{off} (c^{-1})$	Кінетична $K_D (M)$
JXB7	$3,70 \times 10^7$	$7,37 \times 10^{-3}$	$1,99 \times 10^{-9}$
31B2	$1,89 \times 10^6$	$1,27 \times 10^{-4}$	$7,52 \times 10^{-11}$
Hu22	$1,09 \times 10^7$	$8,64 \times 10^{-3}$	$7,64 \times 10^{-10}$
3.23	$6,20 \times 10^6$	$6,59 \times 10^{-4}$	$9,94 \times 10^{-11}$
3.8	$5,58 \times 10^6$	$7,68 \times 10^{-4}$	$1,05 \times 10^{-10}$
L1.5	$5,31 \times 10^6$	$1,82 \times 10^{-4}$	$3,42 \times 10^{-11}$
3.12	$3,68 \times 10^6$	$2,20 \times 10^{-4}$	$5,99 \times 10^{-11}$

Параметри зв'язування гепсидину-25 макак-крабоців та мишачого гепсидину-25 різними людськими генноінженерними моноклональними антитілами проти гепсидину наведені у Таблиці 7 та Таблиці 8, відповідно. Зв'язування з паціючим гепсидином-25 не було виявлене для моноклональних антитіл Hu22, 3.23 та 3.8. Загалом було показано, що моноклональні антитіла Hu22 та 3.23 мають зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до зрілого гепсидину макак-крабоців, порівнянну зі зв'язувальною спорідненістю до людського гепсидину-25. Однак було показано, що моноклональне антитіло 3.8 має зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до гепсидину-25 макак-крабоців у 10 разів нижчу за зв'язувальну спорідненість до людського гепсидину-25. З іншого боку, було показано, що моноклональні антитіла Hu22, 3.23 та 3.8 мають набагато нижчу зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до людського гепсидину-25, ніж до мишачого гепсидину-25.

Таблиця 7

## Зв'язування з гепсидином-25 макак-крабоців

Mab	$K_{on} (M^{-1}, c^{-1})$	$K_{off} (c^{-1})$	Кінетична $K_D (M)$
Hu22	$8,13 \times 10^6$	$8,16 \times 10^{-3}$	$9,86 \times 10^{-10}$
3.23	$6,51 \times 10^6$	$5,77 \times 10^{-4}$	$8,88 \times 10^{-11}$
3.8	$7,07 \times 10^7$	$6,60 \times 10^{-4}$	$9,33 \times 10^{-12}$

Таблиця 8

## Зв'язування з мишачим гепсидином-25

Mab	$K_{on} (M^{-1}, c^{-1})$	$K_{off} (c^{-1})$	Кінетична $K_D (M)$
Hu22	$1,62 \times 10^6$	$1,26 \times 10^{-1}$	$7,76 \times 10^{-8}$
3.23	$3,83 \times 10^6$	$1,92 \times 10^{-1}$	$5,01 \times 10^{-8}$
3.8	$3,57 \times 10^6$	$1,24 \times 10^{-1}$	$3,46 \times 10^{-8}$

Приклад 3: Клітинний аналіз індукованої гепсидином інтерналізації та деградації феропортину

In vitro клітинний аналіз може бути застосований для визначення нейтралізаційної активності моноклональних антитіл (Mabs), спрямованої проти людського гепсидину. Один з in vitro клітинних аналізів, придатний для визначення нейтралізаційної активності антитіл за цим винаходом, базується на індукованій гепсидином інтерналізації та деградації його рецептора, феропортину. Коротко кажучи, одержують стабільну лінію клітин HEK 293, що надає можливість здійснення індукційної експресії феропортину (FPN). FPN є злитим на C-кінці із зеленим флуоресцентним білком (GFP) для відслідковування. Індукційна експресія молекули FPN-GFP контролюється за допомогою системи T-REx, комерційно доступної регульованої тетрацикліном експресійної системи без вірусних трансактиваторів (Invitrogen, Carlsbad, штат Каліфорнія). Кодувальна послідовність FPN-GFP клонується у векторі pCDNA4/TO, який містить індукційний промотор та маркер стійкості до зеоцину. Одержаний у результаті конструктор трансфікують у клітини T-REx-293, які експресують регуляторний білок, необхідний для індукційної експресії доксицикліну. Клоні, стійкі до зеоцину, перевіряють на індукційну

експресію FPN-GFP. Умови вирощування клітин є по суті такими самими, як описано у інструкції щодо експлуатації системи T-REx System, розробленій виробником цієї системи. Коротко кажучи, клітини вирощують у DMEM (модифіковане за способом Дульбекко середовище Ігла), 10 % діалізованої сироватки плода корови (FBS), 20 мкМ розчині фероцитрату амонію (FAC) плюс розчин (5 мкг/мл) пеніциліну-стрептоміцину. Відбір підтримують зеоцином (100 мкг/мл) та бластицидином (5 мкг/мл). Клітини висівають на сенсibiliзовані полі-D-лізином 96-лункові планшети, які мають чорний колір або є прозорими. Для зчитування загального рівня флуоресценції на лунку застосовують флуоресцентний планшет-рідер із високою роздільною здатністю.

По суті аналіз здійснюють таким чином: після трипсинізації 96-лунковий аналітичний планшет засівають (9000 клітин на лунку) із застосуванням стабільної лінії клітин FPN-GFP/TREx 293. Об'єм засівання на лунку становить 80 мкл. Клітини для закріплення витримують впродовж ночі. Вранці наступного дня до кожної лунки додають 9 мкл (30 нг/мл) доксицикліну для індукування експресії FPN-GFP. Індукція триває впродовж 8 год. Після завершення індукції живильне середовище відсмоктують, і лунки ретельно промивають фосфатно-сольовим буферним розчином (PBS) (120 мкл на лунку). Важливий момент полягає у тому, щоб з кожної лунки видалити усю рідину, оскільки будь-який залишок середовища буде продовжувати індукцію експресії FPN-GFP.

Необхідні матеріали, які підлягають аналізуванню, підготовляють у 96-лунковому форматі для швидкого додання у аналітичний планшет після промивання. Кінцевий аналітичний об'єм на лунку дорівнює 45 мкл. негайно після додання матеріалів, які підлягають аналізуванню, аналітичний планшет зчитують за допомогою флуоресцентного планшет-рідера з високою роздільною здатністю (який виставлений на 550 вольт у каналі 1). Це зчитування є зчитуванням 0 год., і його застосовують для нормалізації кількості клітин на лунку, що корелює із сумарною кількістю одиниць флуоресценції (FLU) на лунку. Людський гепсидин-25 індукує максимальну інтерналізацію та деградацію феропортину при 0,5 мкМ. IC<sub>50</sub> для людського гепсидину-25 становить приблизно 8 нМ. Для аналізів нейтралізації антитіла проти гепсидину концентрацію людського гепсидину-25 підтримують на рівні 100 нМ, антитіла проти гепсидину застосовують із двократними розведеннями від 0,5 мкМ до 8 нМ. Планшети інкубують впродовж 24 год., після чого їх знову зчитують, і дані одержують як відношення сумарної кількості одиниць флуоресценції (FLU) на лунку за 24 год., поділене на сумарну кількість одиниць флуоресценції на лунку за 0 год.

При проведенні цього *in vitro* аналізу біологічну активність людського гепсидину-25 нейтралізували різними моноклональними антитілами проти гепсидину зі значеннями IC<sub>50</sub>, наведеними у Таблиці 9.

Таблиця 9

*In vitro* нейтралізаційна активність людських генноінженерних моноклоіальних антитіл проти гепсидину-25

Mab	IC <sub>50</sub> (нМ) ± середня квадратична помилка (n≥4)
3.23	59,1±1,2
3.12	62,2±5,9
3.6	54,6±1,5
3.9	51,1±1,8
Hu22	163±12,4

Приклад 4: Введення моноклональних антитіл проти гепсидину підвищує рівень сироваткового заліза у макак-крабоїдів, яким підшкірно вводили інтерлейкін-6

Активність антитіл проти гепсидину на індукване IL-6 порушення регулювання рівня сироваткового заліза у макак-крабоїдів може бути визначена, як описано нижче.

Коротко кажучи, антитіла проти гепсидину вводять самцям макак-крабоїдів внутрішньовенним шляхом ударною дозою 1 мг/кг та 10 мг/кг. Через приблизно 1 год. після введення антитіла тварини одержують одноразове підшкірне введення людського IL-6 у дозі 5 мкг/кг. Проби крові відбирають у моменти часу: -1 год. (перед введенням антитіла), 0 год. (безпосередньо перед введенням IL-6) та через 1 год., 3 год., 6 год., 12 год., 24 год., 48 год., 96 год., 168 год., 336 год., 504 год. та 672 год. після обробки IL-6. За варіантом, якому віддається перевага, до складу кожної експериментальної групи входить щонайменше 3 тварини. Рівень сироваткового заліза може бути виміряний за допомогою будь-якого способу, відомого у цій



галузі, який, як правило, вважається медичним співтовариством прийнятним способом визначення рівня сироваткового заліза.

Таблиця 10

Пригнічення моноклональним антитілом проти гепсидину індукованого IL-6 зменшення рівня сироваткового заліза у макак-крабоїдів

Група	Кількість самців	Експериментальні/Конт рольні матеріали	Шлях введення дози	Рівень цільової дози	Концент-рація цільової дози	Об'єм цільової дози (мл/кг)
1	3	1X PBS 1X PBS з rHSA (рекомбінантний людський сироватковий альбумін)	I.V. S.C.	0 мг/кг 0 мкг/кг	0 мг/мл 0 мкг/мл	3,3 1
2	3	1X PBS IL-6*	I.V. S.C.	0 мг/кг 5 мкг/кг	0 мг/мл 5 мкг/мл	3,3 1
3	3	Hu22 IL-6*	I.V. S.C.	1 мг/кг 5 мкг/кг	0,3 мг/мл 5 мкг/мл	3,3 1
4	3	Hu22 IL-6*	I.V. S.C.	10 мг/кг 5 мкг/кг	3 мг/мл 5 мкг/мл	3,3 1
5	3	3.23 IL-6*	I.V. S.C.	1 мг/кг 5 мкг/кг	0,3 мг/мл 5 мкг/мл	3,3 1
6	3	3.23 IL-6*	I.V. S.C.	10 мг/кг 5 мкг/кг	3 мг/мл 5 мкг/мл	3,3 1

- 5 \*Усі дози IL-6 вводять у носії, який являє собою 1X PBS, що містить рекомбінантний людський сироватковий альбумін (0,1 мг/мл).  
S.C. - підшкірна ін'єкція; вводять на 1 місці ін'єкції.  
I.V. - внутрішньовенно; вводять ін'єкцією через підшкірну вену ноги.

- 10 Порівняно з контрольною групою, якій вводили PBS, обробка людським IL-6 спричинює тимчасове зниження рівня сироваткового заліза, із досягненням найнижчого рівня через 12 год. після обробки IL-6. Внутрішньовенне введення Hu22 та 3.23 у дозі 10 мг/кг за приблизно 1 год. до введення людського IL-6 запобігає зниженню рівня заліза, що викликається обробкою IL-6, і веде до підвищення рівня сироваткового заліза на приблизно 52 % та 108 %, відповідно, через  
15 3-6 год. після обробки IL-6. Після досягнення пікових рівнів концентрації сироваткового заліза у подальшому у цих двох групах знижуються і досягають рівнів, подібних до рівнів, досягнутих іншими групами через 24 год. Як Hu22 (p<0,01, 3 год. та 6 год.), так і 3.23 (p<0,01, 3 год., 6 год. та 12 год.) у дозі 10 мг/кг викликають статистично значуще підвищення концентрації сироваткового заліза відносно групи IL-6 з попередньою обробкою PBS. У протилежність до  
20 цього ні Hu22, ні 3.23 у дозі 1 мг/кг не спричинювали статистично значущих різниць у рівнях сироваткового заліза, порівняно з контролем. Таким чином, ці результати демонструють, що антитіла за цим винаходом будуть придатними для лікування анемії, яка є наслідком біологічної активності зрілого гепсидину.

Приклад 5: Визначення селективності антитіл проти гепсидину за допомогою MALDI-TOF

- 25 Клінічне діагностування біомаркерів, яке застосовують у загальноприйнятій практиці, базується, головним чином, на імунологічних кількісних методах - наприклад, ELISA. Ці методи часто є неприйнятними для невеликих антигенів або для ізоформ антигенів (Sparbier K., International Meeting of the Association of Biomolecular Resource Facilities, Salt Lake City, UT, Poster V28-S, (2008); та Gutierrez J.A., et al., (2005)).
- 30 Моноклональне антитіло 31B2 проти людського гепсидину кон'югують зі смолою на основі сефарози 6MB, активованої із застосуванням CNBr (GE healthcare, Piscataway, штат Нью-Джерсі) за методикою виробника. Коротко кажучи, смолу на основі сефарози тричі промивали 1 мМ розчином HCl, і антитіло розбавляли сполучним буфером (100 мМ розчин NaHCO<sub>3</sub>, 0,5 М розчин NaCl, pH 8,3). Для кон'югування при температурі 4 °C впродовж ночі на кожен 1 мг смоли застосовували приблизно 1,7 мг антитіла. Надлишок антитіла вимивали за допомогою 0,1 М ацетатного буфера (pH 4). Приблизно 100 мл зразка людської сироватки інкубували з 0,8 мл кон'югата моноклонального антитіла 31B2 зі смолою на основі сефарози при температурі 4 °C. Після інкубування впродовж ночі суміш смоли/сироватки вносили у колонку, і промивали 10 мМ

розчином фосфату натрію, 0,5 М розчином NaCl, pH 7,4 у кількості 10-20 об'ємів колонки. Колонку промивали 10 мМ розчином натрію фосфату (pH 7,4) без NaCl у кількості 5-10 об'ємів колонки. Насамкінець, колонку елюювали 0,2 % розчином TFA. Елюйовані фракції аналізували на молекулярну масу за допомогою приладу Voyager-DE STR (виробник - Applied Biosystems, Foster City, штат Каліфорнія) у лінійному режимі.

Для молекулярних мас, менших ніж молекулярна маса людського гепсидину-25, мас-спектр визначали за допомогою пептидної матриці. Ідентифікували домінуючий пік, що відповідав людському гепсидину-25 (2790 Да). Були виявлені також менш домінуючі піки для різних скорочених форм гепсидину, а саме гепсидину-24 (2674 Да), гепсидину-22 (2436 Да) та гепсидину-20 (2192 Да).

Для молекулярних мас, більших ніж молекулярна маса людського гепсидину-25, мас-спектр визначали за допомогою білкової матриці. Все ще ідентифікувався домінуючий пік, що відповідав людському гепсидину-25 (25 амінокислот, 2790 Да), але не ідентифікувалося жодного піка, що відповідав би препогепсидину (84 амінокислоти, 9400 Да) або прогепсидину (60 амінокислот, 6929 Да).

Таким чином, імунологічні аналізи із застосуванням моноклонального антитіла 31B2 та його людських генноінженерних варіантів є селективними стосовно людського гепсидину-25, активної найбільш фізіологічно відповідної форми гепсидину у людській сироватці, порівняно з його попередниками та/або скороченими на N-кінці формами, які, як відомо, існують у людській сироватці.

Приклад 6: Коригування криптичного сплайсингу мРНК, що кодує антитіло проти гепсидину-25, при експресії у клітинах CHO

Стандартні методи молекулярної біології можуть бути застосовані для одержання рекомбінантних експресійних векторів, трансфікування клітин-хазяїв, вибору трансформантів, ізолювання ліній клітин-хазяїв, здатних до експресії антитіла за цим винаходом, культивування клітин-хазяїв та виділення експресованих антитіл з культурального середовища. Несподівано виявилось, що після продукування моноклональних антитіл 3.12 та 3.23 суспензійними культурами клітин яєчника китайського хом'ячка (CHO) із застосуванням рекомбінантної глутамінсинтезної (GS) експресійної системи (виробник - Lonza Biologies, Inc., Slough, Великобританія), спостерігався незвичайно високий рівень агрегування антитіло-білок (~15 % та ~30 %, за результатами гель-хроматографії за розміром молекул, відповідно). Однак високий рівень агрегування не спостерігався, якщо два моноклональні антитіла тимчасово експресували у клітинах НЕК-293 людського походження. Дослідження мРНК кожної з двох ліній клітин CHO виявило присутність транскриптів неочікуваних розмірів, що дозволяло висунути припущення про те, що нуклеотидні послідовності, що кодують білки моноклональних антитіл 3.12 та 3.23, були сприйнятливими до явищ криптичного сплайсингу. Крім того, дослідження зразків агрегованих білків виявило присутність скорочення у білка легкого ланцюга. Секвенування кДНК, яку одержали з мРНК, ізолюваної з клітин CHO, які експресували моноклональні антитіла 3.12 та 3.23, підтвердило присутність криптичних інтронів у генах легкого ланцюга. Донор сплайсованого фрагмента знаходився у кодонах, що кодували амінокислотні залишки R/VS з CDR1 легкого ланцюга (амінокислоти 5-7 послідовності SEQ ID NO:43; "/" означає екзон-інтронне зчленування, у межах рамки зчитування). Крім того, ймовірна акцепторна точка сплайсингу була знайдена на кодонах, що кодують амінокислотні залишки LI FRL2 (послідовність SEQ ID NO:40), з ймовірною поліпіримідиною ділянкою у кодонів, що кодують амінокислотні залишки STL та SPL LCDR2 моноклональних антитіл 3.12 та 3.23, відповідно. І врешті-решт, акцепторні сайти були ідентифіковані на кодонах, що кодують амінокислотні залишки C/Q/Q LCDR3 обох моноклональних антитіл 3.12 та 3.23 (амінокислоти 1-3 послідовності SEQ ID NO:61; "/" означає ймовірні екзон-інтронні зчленування).

Потім вихідні послідовності ДНК, що кодують легкі ланцюги моноклональних антитіл 3.12 та 3.23 (послідовності SEQ ID NO:153 та SEQ ID NO:155, відповідно), були модифіковані для видалення послідовностей, які надають донор сплайсованого фрагмента, акцепторну точку сплайсингу, акцептор та поліпіримідинову ділянку для критичного інтрона. Конкретніше, донорний сайт був змінений з CGC GTA AGT на AGA GTC TCC (послідовність SEQ ID NO:45). Акцепторна точка сплайсингу була змінена з CTG ATC на CTC ATC (послідовність SEQ ID NO:162); поліпіримідинова ділянка була змінена з TCC ACC CTG на AGC ACA CTG (послідовність SEQ ID NO:77) та з TCC CCC CTG на AGC CCA CTG (послідовність SEQ ID NO:78) у 3.12 та 3.23, відповідно; і акцептори були змінені з TGT CAG CAG TGG на TGC CAA CAA TGG (послідовність SEQ ID NO:100).

Отже, подальшу експресію легких ланцюгів моноклональних антитіл 3.12 та 3.23 здійснювали за допомогою рекомбінантних експресійних векторів, що містили модифіковані

послідовності ДНК, які представлені послідовностями SEQ ID NO:12 та SEQ ID NO:13, відповідно. Була визначена кількість агрегованих антитіл, які одержали після експресії модифікованих нуклеїнових кислотних послідовностей у клітинах CHO, яка становила 1 % або менше як для моноклонального антитіла 3.12, так і для моноклонального антитіла 3.23.

- 5 Слід очікувати, що модифікації послідовностей ДНК, що кодують легкі ланцюги різних інших антитіл за цим винаходом, будуть ймовірно чинити значний сприятливий вплив, оскільки донор сплайсованого фрагмента, поліпиримідинова ділянка і акцептори сплайсованого фрагмента походять з кодону, що кодує гіперваріабельні ділянки (LCDR), які забезпечують специфічність антитіла. Акцепторна точка сплайсингу знаходиться у FRL2, а послідовність LLIY у каркасах
- 10 легкого ланцюга є висококонсервативною. Крім того, мотив QQ, кодувальна нуклеотидна послідовність якого охоплює ідентифіковану ділянку акцептора сплайсованого фрагмента, є консервативним LCDR3 багатьох моноклональних антитіл проти гепсидину за цим винаходом. Як правило, багато зародкових послідовностей легкого ланцюга містять один або обидва ці Q кодони (CAG), які можуть відігравати роль акцептора потенційних криптичних інтронів.

15 Лістинг послідовностей

<110> Eli Lilly and Company

<120> АНТИТІЛА ПРОТИ ГЕПСИДИНУ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

<130> X-17737

<140> PCT/US2008/081493

20 <141> 2008-10-29

<150> 60/984910

<151> 2007-11-02

<160> 162

<170> PatentIn version 3.4

25 <210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Asp Thr His Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly Cys Cys His Arg

1

5

10

15

Ser Lys Cys Gly Met Cys Cys Lys Thr

30 20

25

<210> 2

<211> 1329

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

35 <220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 2

cagggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggcta caccttcctg atttatccaa taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaaat ttctatcctt acctgggtgt cactaactac 180

ctggaaaagt tcaagggcag agtcaccatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gcgcgggggg 300

actgggtcct ttgactactg gggccaagga accacggtca ccgtctctc agcctccacc 360

aagggcccat cggctctccc gctagcggcc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc 420

```

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtcc tacagtcctc aggactctac 540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc 600
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagtc caaatatggt 660
ccccatgcc caccctgcc agcacctgag ttcttggggg gaccatcagt cttctgttcc 720
ccccaaaaac ccaaggacac tctcatgac tcccgagccc ctgaggtcac gtgcgtggtg 780
gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag 840
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta ccgtgtggtc 900
agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc 960
tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1020
cgagagccac aggtgtacac cctgccccca tcccaggagg agatgaccaa gaaccaggtc 1080
agcctgacct gcctggtcaa aggtttctac ccagcgcaca tcgccgtgga gtgggaaagc 1140
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc 1200
ttcttctct acagcaggct aaccgtggac aagagcaggt ggcaggaggg gaatgtcttc 1260
tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cacagaagag cctctccctg 1320
tctctgggt 1329
<210> 3
5 <211> 1329
  <212> ДНК
  <213> Штучна послідовність
  <220>
  <223> Синтетичний конструкт
10 <400> 3
   caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt 60
   tcttgcaagg catctggcta caccttcaact atttatccaa taagctgggt gcgacaggcc 120
   cctggacaag ggcttgagtg gatgggaaat ttctatcctt acctgggtga cactaactac 180
   aatgaaaagt tcaagggcag agtcaccatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240

```

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gcgcgggggg 300

actgggtcct ttgactactg gggccaagga accacgggtca ccgtctctc agcctccacc 360

aagggcccat cggtcttccc gctagcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc 420

gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcgcggt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc 600

aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagtc caaatatggg 660

ccccatgcc caccctgcc agcacctgag ttcttggggg gaccatcagt ctctctgttc 720

ccccaaaac ccaaggacac totcatgac tcccggaacc ctgagggtcac gtgcgtgggtg 780

gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag 840

gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta ccgtgtggtc 900

agcgtctctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc 960

tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1020

cgagagccac aggtgtacac cctgccccca tcccaggagg agatgaccaa gaaccaggtc 1080

agcctgacct gcctgggtcaa aggcttctac ccagcgcaca tcgccgtgga gtgggaaagc 1140

aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc 1200

ttcttctct acagcagget aaccgtggac aagagcaggt ggcaggaggg gaatgtcttc 1260

tcatgtctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cacagaagag cctctccctg 1320

tctctgggt 1329

5 <210> 4  
 <211> 1329  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>

10 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 4

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaagggt 60

tcctgcaagg catctggcta caccttctctg atttatccaa taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaaat ttcatcctt acctgggtgt cactaactac 180

ctggaaaagt tcaagggcag agtcaccatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240  
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gcgcgggggg 300  
actgggtcct ttgactactg gggccaagga accacgggtca ccgtctctc agcctccacc 360  
aagggcccat cggctctccc gctagcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc 420  
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca 480  
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtctc aggaactctac 540  
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc 600  
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gaggtaggtc caaatatggt 660  
cccccattgc caccctgccc agcacctgag ttctggggg gaccatcagt ctctctgttc 720  
ccccaaaac ccaaggacac tctcatgac tcccgaccc ctgaggtcac gtgcgtgggtg 780  
gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag 840  
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta ccgtgtggtc 900  
agcgtctctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc 960  
tccaacaaag gcctccgctc ctccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1020  
cgagagccac aggtgtacac cctgccccca tcccaggagg agatgaccaa gaaccaggtc 1080  
agcctgacct gcctgggtcaa aggtctctac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggaaagc 1140  
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgetggactc cgacggctcc 1200  
ttcttctct acagcaggct aaccgtggac aagagcaggt ggcaggagg gaatgtcttc 1260  
tcatgtccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cacagaagag cctctccctg 1320  
tctctgggt 1329

<210> 5

5 <211> 1329

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

10 <400> 5

caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc agtgaaggtt 60  
 tcctgcaagg catctggcta caccttctctg atttatccaa taagctgggt ggcacaggcc 120  
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaaat ttcatcctt acctgggtgt cactaactac 180  
 gtggaaaagt tcaagggcag agtcaccatt accgcggaca aatccacgag cacagcctac 240  
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gcgcgggggg 300  
 actgggtcct ttgactactg gggccaagga accacggtca ccgtctcctc agcctccacc 360  
 aagggcccat cggctcttccc gctagcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc 420  
 gcctggggt gctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 480  
 ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtcc tacagtctc aggactctac 540  
 tcctcagca gcgtggtgac cgtgcctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc 600  
 aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagtc caaatatggt 660  
 ccccatgcc caccctgcc agcacctgag ttcttggggg gaccatcagt ctctctgttc 720  
 cccccaaac ccaaggacac tctcatgac tcccgaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg 780  
 gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag 840  
 gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta ccgtgtggtc 900  
 agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc 960  
 tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1020  
 cgagagccac aggtgtacac cctgccccca tcccaggagg agatgaccaa gaaccaggtc 1080  
 agcctgacct gcctgggtcaa aggcttctac ccacgcgaca tcgccgtgga gtgggaaagc 1140  
 aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc 1200  
 ttcttctct acagcaggct aaccgtggac aagagcaggt ggcaggaggg gaatgtcttc 1260  
 tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cacagaagag cctctccctg 1320  
 tctctgggt 1329

- 5 <210> 6  
 <211> 443  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетичний конструкт

&lt;400&gt; 6

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

5

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

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



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

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

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

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

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

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

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

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

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu  
 405 410 415

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
 435 440

<210> 7

<211> 443

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетичний конструкт

&lt;400&gt; 7

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ile Tyr  
20 25 30  
Pro Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125  
Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205  
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro  
210 215 220

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

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

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270  
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

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

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

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

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
355 360 365  
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro  
370 375 380

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu  
405 410 415

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
435 440

<210> 8

5 <211> 443

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

10 <400> 8

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

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240  
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

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

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
 325 330 335  
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln  
 340 345 350

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

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

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu  
 405 410 415

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
 435 440

<210> 9  
 <211> 443  
 <212> PRT

&lt;213&gt; Штучна послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетичний конструкт

&lt;400&gt; 9

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
 20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Val Glu Lys Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

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

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

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

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe  
260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
290 295 300

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

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

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln  
340 345 350  
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
355 360 365

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

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

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu  
405 410 415

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly  
435 440

<210> 10

<211> 645

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 10

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgca gtgccagagtc acgcgtaagt tccacttact tgttctggta tcagcagaaa	120
ccagggaaaag cccctaagct cctgatctat aggacatccc ccctggcttc tggagtccca	180
tcaaggttca gtggcagtggt atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa	240
cctgaagatt ttgcaactta ctattgtcag cagtggagtg gttaccatt cacgttcggc	300
ggagggacca aggtggagat caaacggact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc	480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccttg	540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag	600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc	645

<210> 11

5 <211> 645

<212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

10 <400> 11

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgca gtgccagagtc acgcgtaagt tccacttact tgttctggta tcagcagaaa	120
ccagggaaaag cccctaagct cctgatctat aggacatcca ccctggcttc tggagtccca	180
tcaaggttca gtggcagtggt atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa	240
cctgaagatt ttgcaactta ctattgtcag cagtggagtg gttaccatt cacgttcggc	300
ggagggacca aggtggagat caaacggact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc	480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccttg	540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag	600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc	645



<210> 12  
 <211> 645  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 12

5

```
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgca gtgccagctc aagagtctcc tccacttact tgttctggta tcagcagaaa      120
ccagggaaag cccctaagct cctcatctat aggacaagca cactgacctc tggagtccca      180
tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa      240
cctgaagatt ttgcaactta ctattgcaa caatggagtg gttaccatt cgtgttcggc      300
ggagggacca aggtggagat caaacggact gtggctgcac catctgtctt catcttccc      360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc      420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc      480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg      540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag      600
ggcctgagct cgcctgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc      645
```

<210> 13  
 <211> 645  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 13

10

```
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc      60
atcacttgca gtgccagctc aagagtctcc tccacttact tgttctggta tcagcagaaa      120
ccagggaaag cccctaagct cctcatctat aggacaagcc cactggcctc tggagtccca      180
tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa      240
cctgaagatt ttgcaactta ctattgcaa caatggagtg gttaccatt cgtgttcggc      300
ggagggacca aggtggagat caaacggact gtggctgcac catctgtctt catcttccc      360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc      420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc      480
```

15

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

<210> 14

<211> 215

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 14

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

1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Glu Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

10 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 15

<211> 215

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 15

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
 20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
 85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110  
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 165 170 175

10

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 16

<211> 215

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 16

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95  
Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

10

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 17

<211> 215

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 17

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

10

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

5 <210> 18  
<211> 25  
<212> PRT  
<213> Bos sp.  
<400> 18

Asp Thr His Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly Cys Cys Arg Lys  
1 5 10 15

Gly Thr Cys Gly Met Cys Cys Arg Thr  
20 25

10 <210> 19  
<211> 25  
<212> PRT  
<213> Sus sp.  
<400> 19

Asp Thr His Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly Cys Cys Arg Lys  
1 5 10 15

Ala Ile Cys Gly Met Cys Cys Lys Thr  
20 25

15 <210> 20  
<211> 25  
<212> PRT  
<213> Macaca sp.  
<400> 20

Asp Thr His Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly Cys Cys His Arg  
1 5 10 15

Ser Lys Cys Gly Met Cys Cys Arg Thr  
20 25

20 <210> 21  
<211> 25  
<212> PRT  
<213> Canis sp.  
<400> 21

Asp Thr His Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly Cys Cys Lys Thr  
1 5 10 15

Pro Lys Cys Gly Leu Cys Cys Lys Thr  
20 25

25 <210> 22  
<211> 25

<212> PRT  
 <213> Mus sp.  
 <400> 22  
 Asp Thr Asn Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Lys Cys Cys Asn Asn  
 1 5 10 15  
  
 Ser Gln Cys Gly Ile Cys Cys Lys Thr  
 20 25  
 5 <210> 23  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> Rattus sp.  
 <400> 23  
 Asp Thr Asn Phe Pro Ile Cys Leu Phe Cys Cys Lys Cys Cys Lys Asn  
 10 1 5 10 15  
 Ser Ser Cys Gly Leu Cys Cys Ile Thr  
 20 25  
 <210> 24  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 15 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 24  
 Asp Thr Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Cys Cys Cys Gly Cys Cys  
 1 5 10 15  
  
 Thr  
 20 <210> 25  
 <211> 571  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 25  
 Met Thr Arg Ala Gly Asp His Asn Arg Gln Arg Gly Cys Cys Gly Ser  
 1 5 10 15  
  
 Leu Ala Asp Tyr Leu Thr Ser Ala Lys Phe Leu Leu Tyr Leu Gly His  
 20 25 30  
  
 Ser Leu Ser Thr Trp Gly Asp Arg Met Trp His Phe Ala Val Ser Val  
 35 40 45  
  
 Phe Leu Val Glu Leu Tyr Gly Asn Ser Leu Leu Leu Thr Ala Val Tyr  
 50 55 60  
  
 Gly Leu Val Val Ala Gly Ser Val Leu Val Leu Gly Ala Ile Ile Gly  
 65 70 75 80  
  
 Asp Trp Val Asp Lys Asn Ala Arg Leu Lys Val Ala Gln Thr Ser Leu  
 25 85 90 95

Val Val Gln Asn Val Ser Val Ile Leu Cys Gly Ile Ile Leu Met Met			
	100	105	110
Val Phe Leu His Lys His Glu Leu Leu Thr Met Tyr His Gly Trp Val			
	115	120	125
Leu Thr Ser Cys Tyr Ile Leu Ile Ile Thr Ile Ala Asn Ile Ala Asn			
	130	135	140
Leu Ala Ser Thr Ala Thr Ala Ile Thr Ile Gln Arg Asp Trp Ile Val			
	145	150	155
Val Val Ala Gly Glu Asp Arg Ser Lys Leu Ala Asn Met Asn Ala Thr			
	165	170	175
Ile Arg Arg Ile Asp Gln Leu Thr Asn Ile Leu Ala Pro Met Ala Val			
	180	185	190
Gly Gln Ile Met Thr Phe Gly Ser Pro Val Ile Gly Cys Gly Phe Ile			
	195	200	205
Ser Gly Trp Asn Leu Val Ser Met Cys Val Glu Tyr Val Leu Leu Trp			
	210	215	220
Lys Val Tyr Gln Lys Thr Pro Ala Leu Ala Val Lys Ala Gly Leu Lys			
	225	230	235
Glu Glu Glu Thr Glu Leu Lys Gln Leu Asn Leu His Lys Asp Thr Glu			
	245	250	255
Pro Lys Pro Leu Glu Gly Thr His Leu Met Gly Val Lys Asp Ser Asn			
	260	265	270
Ile His Glu Leu Glu His Glu Gln Glu Pro Thr Cys Ala Ser Gln Met			
	275	280	285
Ala Glu Pro Phe Arg Thr Phe Arg Asp Gly Trp Val Ser Tyr Tyr Asn			
	290	295	300
Gln Pro Val Phe Leu Ala Gly Met Gly Leu Ala Phe Leu Tyr Met Thr			
	305	310	315
Val Leu Gly Phe Asp Cys Ile Thr Thr Gly Tyr Ala Tyr Thr Gln Gly			
	325	330	335



Leu Ser Gly Ser Ile Leu Ser Ile Leu Met Gly Ala Ser Ala Ile Thr  
 340 345 350  
 Gly Ile Met Gly Thr Val Ala Phe Thr Trp Leu Arg Arg Lys Cys Gly  
 355 360 365  
 Leu Val Arg Thr Gly Leu Ile Ser Gly Leu Ala Gln Leu Ser Cys Leu  
 370 375 380  
 Ile Leu Cys Val Ile Ser Val Phe Met Pro Gly Ser Pro Leu Asp Leu  
 385 390 395 400  
 Ser Val Ser Pro Phe Glu Asp Ile Arg Ser Arg Phe Ile Gln Gly Glu  
 405 410 415  
 Ser Ile Thr Pro Thr Lys Ile Pro Glu Ile Thr Thr Glu Ile Tyr Met  
 420 425 430  
 Ser Asn Gly Ser Asn Ser Ala Asn Ile Val Pro Glu Thr Ser Pro Glu  
 435 440 445  
 Ser Val Pro Ile Ile Ser Val Ser Leu Leu Phe Ala Gly Val Ile Ala  
 450 455 460  
 Ala Arg Ile Gly Leu Trp Ser Phe Asp Leu Thr Val Thr Gln Leu Leu  
 465 470 475 480  
 Gln Glu Asn Val Ile Glu Ser Glu Arg Gly Ile Ile Asn Gly Val Gln  
 485 490 495  
 Asn Ser Met Asn Tyr Leu Leu Asp Leu Leu His Phe Ile Met Val Ile  
 500 505 510  
 Leu Ala Pro Asn Pro Glu Ala Phe Gly Leu Leu Val Leu Ile Ser Val  
 515 520 525  
 Ser Phe Val Ala Met Gly His Ile Met Tyr Phe Arg Phe Ala Gln Asn  
 530 535 540  
 Thr Leu Gly Asn Lys Leu Phe Ala Cys Gly Pro Asp Ala Lys Glu Val  
 545 550 555 560  
 Arg Lys Glu Asn Gln Ala Asn Thr Ser Val Val  
 565 570

<210> 26

```

<211> 12
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
<220>
5 <223> Синтетичний конструктор
<400> 26
Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Thr Tyr Leu His
1 5 10
<210> 27
<211> 10
10 <212> PRT
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетичний конструктор
<400> 27
Gly Tyr Thr Phe Thr Ile Tyr Pro Ile Glu
15 1 5 10
<210> 28
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
20 <220>
<223> Синтетичний конструктор
<400> 28
Asn Phe His Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 29
25 <211> 10
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетичний конструктор
30 <400> 29
Gly Tyr Thr Phe Tyr Ile Tyr Pro Ile Ser
1 5 10
<210> 30
<211> 7
<212> PRT
35 <213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетичний конструктор
<400> 30
Arg Thr Ser Thr Leu Ala Ser
1 5
40 <210> 31
<211> 9
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
<220>
45 <223> Синтетичний конструктор
<400> 31
Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
1 5
<210> 32
<211> 10

```

<212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 .<223> Синтетичний конструктор  
 5 <400> 32  
 Gly Tyr Thr Phe Thr Ile Tyr Pro Ile Ser  
 1 5 10  
 <210> 33  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 10 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструктор  
 <400> 33  
 Asn Phe His Pro Tyr Lys Gly Leu Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
 Gly  
 15 <210> 34  
 <211> 61  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 34  
 Gly Ser Val Phe Pro Gln Gln Thr Gly Gln Leu Ala Glu Leu Gln Pro  
 1 5 10 15  
 Gln Asp Arg Ala Gly Ala Arg Ala Ser Trp Met Pro Met Phe Gln Arg  
 20 25 30  
 Arg Arg Arg Arg Asp Thr His Phe Pro Ile Cys Ile Phe Cys Cys Gly  
 35 40 45  
 Cys Cys His Arg Ser Lys Cys Gly Met Cys Cys Lys Thr  
 50 55 60  
 20 <210> 35  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 25 <400> 35  
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser  
 1 5 10 15  
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser  
 20 25  
 <210> 36  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 30 <213> Homo sapiens  
 <400> 36  
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly  
 1 5 10  
 <210> 37  
 <211> 32

<212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 37  
 Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu  
 1 5 10 15  
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 20 25 30  
 5 <210> 38  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 38  
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 1 5 10  
 10 <210> 39  
 <211> 23  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 15 <400> 39  
 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  
 20  
 <210> 40  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 20 <213> Homo sapiens  
 <400> 40  
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr  
 1 5 10 15  
 <210> 41  
 <211> 12  
 25 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 41  
 Ser Ala Glu Ser Arg Val Ser Ser Thr Tyr Leu Phe  
 1 5 10  
 30 <210> 42  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 35 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)...(3)  
 40 <223> Xaa у положенні 3 = Glu або Ser  
 <400> 42  
 Ser Ala Xaa Ser Arg Val Ser Ser Thr Tyr Leu Phe  
 1 5 10  
 <210> 43

<211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 5 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 43  
 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr Tyr Leu Phe  
 1 5 10  
 <210> 44  
 <211> 17  
 10 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 44  
 Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
 15 Gly  
 <210> 45  
 <211> 9  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність  
 20 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 45  
 agagtctcc  
 <210> 46  
 25 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 30 <400> 46  
 Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr  
 1 5  
 <210> 47  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 35 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 47  
 Ser Leu Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr Tyr Leu Phe  
 1 5 10  
 40 <210> 48  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 45 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 48  
 Ser Ile Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr Tyr Leu Phe  
 1 5 10  
 <210> 49  
 <211> 12

<212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 5 <400> 49  
 Ser Trp Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr Tyr Leu Phe  
 1 5 10  
 <210> 50  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 10 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 50  
 Ser Ala Gly Ser Arg Val Ser Ser Thr Tyr Leu Phe  
 1 5 10  
 15 <210> 51  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 20 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 51  
 Ser Ala Ser Ser Arg Val Val Ser Thr Tyr Leu Phe  
 1 5 10  
 <210> 52  
 <211> 12  
 25 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <220>  
 30 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)...(2)  
 <223> Xaa у положенні 2 = Ala, Leu, або lie  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 35 <222> (3)...(3)  
 <223> Xaa у положенні 3 = Ser або Gly  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE'  
 <222> (5)...(5)  
 40 <223> Xaa у положенні 5 = Arg або Ser  
 <400> 52  
 Ser Xaa Xaa Ser Xaa Val Ser Ser Thr Tyr Leu Phe  
 1 5 10  
 <210> 53  
 <211> 7  
 45 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 53  
 Arg Thr Ser Pro Leu Ala Ser  
 50 1 5  
 <210> 54  
 <211> 7  
 <212> PRT

<213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 54  
 Arg Thr Ser Ala Leu Ala Ser  
 1 5  
 <210> 55  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 55  
 Arg Thr Ser Trp Leu Ala Ser  
 1 5  
 <210> 56  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 56  
 Arg Thr Ser Thr Gly Ala Ser  
 1 5  
 <210> 57  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 57  
 Arg Thr Ser Thr Leu Thr Ser  
 1 5  
 <210> 58  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 58  
 Arg Thr Ser Thr Leu Val Ser  
 1 5  
 <210> 59  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 59  
 Arg Thr Ser Thr Leu Leu Ser  
 1 5  
 <210> 60  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <220>

```

<221> MISC_FEATURE
<222> (4)...(4)
<223> Xaa у положенні 4 = Thr, Pro, або Ala
<220>
5 <221> MISC_FEATURE
  <222> (5)...(5)
  <223> Xaa у положенні 5 = Leu або Gly
  <220>
  <221> MISC_FEATURE
10 <222> (6)...(6)
   <223> Xaa у положенні 6 = Ala, Thr, або Val
   <400> 60
   Arg Thr Ser Xaa Xaa Xaa Ser
   1           5
   <210> 61
15 <211> 10
   <212> PRT
   <213> Штучна послідовність
   <220>
   <223> Синтетичний конструкт
20 <400> 61
   Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Phe Val
   1           5           10
   <210> 62
   <211> 9
   <212> PRT
25 <213> Штучна послідовність
   <220>
   <223> Синтетичний конструкт
   <220>
   <221> MISC_FEATURE
30 <222> (9)...(9)
   <223> Xaa у положенні 9 = Thr або Val
   <400> 62
   Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Phe Xaa
   1           5
   <210> 63
35 <211> 10
   <212> PRT
   <213> Штучна послідовність
   <220>
   <223> Синтетичний конструкт
40 <400> 63
   Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr Pro Ile Ser
   1           5           10
   <210> 64
   <211> 10
   <212> PRT
45 <213> Штучна послідовність
   <220>
   <223> Синтетичний конструкт
   <400> 64
   Gly Tyr Thr Phe Trp Ile Tyr Pro Ile Ser
   1           5           10
50 <210> 65
   <211> 10
   <212> PRT
   <213> Штучна послідовність
   <220>

```



<223> Синтетичний конструктор  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)...(5)  
 5 <223> Xaa у положенні 5 = Thr, Trp, Tyr, або Leu  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)...(10)  
 <223> Xaa у положенні 10 = Ser або Glu  
 10 <400> 65  
 Gly Tyr Thr Phe Xaa Ile Tyr Pro Ile Xaa  
 1 5 10  
 <210> 66  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 15 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструктор  
 <400> 66  
 Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
  
 Gly  
 20 <210> 67  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 25 <223> Синтетичний конструктор  
 <400> 67  
 Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Leu Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
  
 Gly  
 <210> 68  
 <211> 17  
 30 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструктор  
 <400> 68  
 Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
 1 5 10 15  
  
 Gly  
 35 <210> 69  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 40 <220>  
 <223> Синтетичний конструктор  
 <400> 69

Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Met Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 70

<211> 17

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 70

Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Ala Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15

Gly

10 <210> 71

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

15 <223> Синтетичний конструкт

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (8)...(8)

<223> Хаа у положенні 8 = Asp, Thr, Leu, або Val

20 <220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (9)...(9)

<223> Хаа у положенні 9 = Thr або Ala

<400> 71

Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Xaa Xaa Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15

25 Gly

<210> 72

<211> 8

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

30 <220>

<223> Синтетичний конструкт.

<400> 72

Gly Gly Phe Gly Ser Phe Asp Tyr

1 5

<210> 73

35 <211> 8

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

40 <400> 73

Gly Gly Thr Gly Ala Phe Asp Tyr

1 5

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

45 <213> Штучна послідовність

```

<220>
<223> Синтетичний конструкт
<400> 74
Gly Gly Thr Gly Ser Phe Pro Tyr
1           5
5 <210> 75
  <211> 8
  <212> PRT
  <213> Штучна послідовність
  <220>
10 <223> Синтетичний конструкт
   <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <222> (3)...(3)
   <223> Xaa у положенні 3 = Thr або Phe
15 <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <222> (5)...(5)
   <223> Xaa у положенні 5 = Ser або Ala
   <220>
20 <221> MISC_FEATURE
   <222> (7)...(7)
   <223> Xaa у положенні 7 = Asp або Pro
   <400> 75
   Gly Gly Xaa Gly Xaa Phe Xaa Tyr
   1           5
25 <210> 76
   <211> 7
   <212> PRT
   <213> Штучна послідовність
   <220>
30 <223> Синтетичний конструкт
   <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <222> (4)...(4)
   <223> Xaa у положенні 4 = Pro або Thr
35 <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <222> (6)...(6)
   <223> Xaa у положенні 6 = Ala, Thre, або Leu
   <400> 76
   Arg Thr Ser Xaa Leu Xaa Ser
40 1           5
   <210> 77
   <211> 9
   <212> ДНК
   <213> Штучна послідовність
45 <220>
   <223> Синтетичний конструкт
   <400> 77
   agcacactg
50 <210> 78
   <211> 9
   <212> ДНК
   <213> Штучна послідовність
   <220>
   <223> Синтетичний конструкт
55 <400> 78
   agcccactg

```

```

<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
5 <220>
<223> Синтетичний конструкт
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)...(3)
10 <223> Xaa у положенні 3 = Thr або Glu
<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)...(5)
<223> Xaa у положенні 5 = Leu або Thr
15 <400> 79
    Gly Tyr Xaa Phe Xaa Ile Tyr Pro Ile
    1             5

<210> 80
<211> 17
<212> PRT
20 <213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетичний конструкт
<400> 80
    Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Lys Tyr Val Glu Lys Phe Lys
    1             5             10             15

    Gly

25 <210> 81
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
<220>
30 <223> Синтетичний конструкт
<400> 81
    Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Val Glu Lys Phe Lys
    1             5             10             15

    Gly

35 <210> 82
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
<220>
<223> Синтетичний конструкт
<400> 82
    Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Lys Tyr Leu Glu Lys Phe Lys
    1             5             10             15

    Gly

40 <210> 83
<211> 17
<212> PRT
<213> Штучна послідовність
45 <220>
<223> Синтетичний конструкт

```

<400> 83

Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Lys Tyr Val Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 84

<211> 17

5 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 84

Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 85

<211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

15 <220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 85

Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Val Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 86

20 <211> 17

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<22Q>

<223> Синтетичний конструкт

25 <400> 86

Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 87

<211> 17

<212> PRT

30 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<220>

<221> MISC\_FEATURE

35 <222> (8)...(8)

<223> Хаа у положенні 8 = Val або Asp

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (10)...(10)

40 <223> Хаа у положенні 10 = Asn, Lys, або Arg

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (12)...(12)

<223> Хаа у положенні 12 = Val, Leu, або Asn

<400> 87

Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Xaa Thr Xaa Tyr Xaa Glu Lys Phe Lys  
1 5 10 15

Gly

<210> 88

5 <211> 9

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

10 <400> 88

Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro Phe Thr  
1 5

<210> 89

<211> 107

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 89

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
100 105

<210> 90

20 <211> 329

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

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  
325

<210> 91

<211> 329

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 91

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

Arg 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 Glu Glu
225                      230                      235                      240

Met 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
                      325

```

<210> 92

<211> 325

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

```

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1                      5                      10                      15

```

5

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr  
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro  
100 105 110  
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp  
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp  
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly  
145 150 155 160

Met Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn  
165 170 175  
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp  
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro  
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn  
225 230 235 240  
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly  
325

<210> 93

<211> 326

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 93

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  
325

<210> 94

<211> 326

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 94

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 Ala Ala 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  
325

<210> 95

<211> 97

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструктор

<400> 95

Met Gly Ser Ser His His His His His His Ser Ser Gly Leu Val Pro  
1 5 10 15

Arg Gly Ser His Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg  
20 25 30

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

Phe Gly Gly Gly Asp His Pro Pro Lys Ser Asp Leu Ile Glu Gly Arg  
50 55 60

Gly Ile Leu Asp Asp Asp Asp Lys Asp Thr His Phe Pro Ile Cys Ile  
65 70 75 80

Phe Cys Cys Gly Cys Cys His Arg Ser Lys Cys Gly Met Cys Cys Lys  
85 90 95

Thr

10 <210> 96

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys  
20 25 30

15 <210> 97

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20 <400> 97

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 98

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Mus sp.

<400> 98

Gln Val His Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Thr Phe Thr Ile Tyr

20 25 30

Pro Ile Glu Trp Met Lys Gln Asn His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Phe His Pro Tyr Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Lys Leu Thr Val Glu Lys Ser Ser Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser

115

10 <210> 99

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 99

Glu Thr Thr Val Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ala Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Gln Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Thr

20 25 30

Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Ala Ser Pro Lys Pro Leu

35 40 45

Ile Tyr Arg Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser

50 55 60

15

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Val Glu  
65 70 75 80

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

Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 100

<211> 12

<212> ДНК

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 100

tgccaacaat gg

12

10 <210> 101

<211> 108

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

15 <223> Синтетичний конструкт

<400> 101

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 Ser Leu Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 102

20 <211> 107

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

25 <400> 102



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 Ser Ile Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
 20 25 30  
 Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
 85 90 95

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

<210> 103

<211> 108

5 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 103

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 Ser Trp Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
 20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
 85 90 95

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

<210> 104

<211> 108

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Штучна послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетичний конструкт

5 &lt;400&gt; 104

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 Ser Ala Gly Ser Arg Val Ser Ser Thr  
 20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45

Ile Tyr Arg Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
 85 90 95

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

&lt;210&gt; 105

&lt;211&gt; 108

10 &lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Штучна послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетичний конструкт

&lt;400&gt; 105

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Val Ser Thr  
 20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45

Ile Tyr Arg Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
 65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
 85 90 95

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

<210> 106

<211> 108

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 106

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

10 <210> 107

<211> 108

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

15 <220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 107

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 108

<211> 108

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструктор

<400> 108

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

10 <210> 109

<211> 108

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

15 <223> Синтетичний конструктор

<400> 109

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
65 70 75 80  
Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

5 <210> 110  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність  
<220>  
<223> Синтетичний конструкт  
<400> 110

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

10 Ile Tyr Arg Thr Ser Thr Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
50 55 60  
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

15 <210> 111  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Штучна послідовність  
<220>  
<223> Синтетичний конструкт  
<400> 111

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 112

<211> 108

5 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструктор

<400> 112

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

10

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 113

<211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 5 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 113

```

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr
          20           25           30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
          35           40           45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro
          85           90           95

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

```

<210> 114  
 <211> 108  
 10 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 114

```

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr
          20           25           30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
          35           40           45

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

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

```

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 115

<211> 108

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 115

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45  
Ile Tyr Arg Thr Ser Thr Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser  
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 116

<211> 108

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 116

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45



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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 117

<211> 108

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 117

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

10 <210> 118

<211> 108

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

15 <223> Синтетичний конструкт

<400> 118

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
 20 25 30  
 Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
 85 90 95

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

<210> 119

<211> 108

5 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 119

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
 20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
 35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
 85 90 95

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

<210> 120

<211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 5 <223> Синтетичний конструктор  
 <400> 120

```

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr
          20          25          30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
          35          40          45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro
          85          90          95

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

```

<210> 121  
 <211> 108  
 10 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструктор  
 <400> 121

```

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr
          20          25          30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
          35          40          45

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

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

```

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 122

<211> 108

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструктор

<400> 122

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln  
65 70 75 80  
Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 123

<211> 108

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструктор

<400> 123

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 124

<211> 108

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 124

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

10 <210> 125

<211> 108

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

15 <223> Синтетичний конструкт

<400> 125

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 126

<211> 108

5 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 126

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 Ser Ala Glu Ser Arg Val Ser Ser Thr  
20 25 30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu  
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro  
85 90 95

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

<210> 127  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 127

5

```

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 Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Ser Thr
          20           25           30

Tyr Leu Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
          35           40           45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Gly Tyr Pro
          85           90           95

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

<210> 128  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 128

10

15

```

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

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

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
          50           55           60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65           70           75           80
    
```

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 129

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 129

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

10

<210> 130

<211> 117

<212> PRT

<213> Синтетична

15

<400> 130

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



Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Trp Ile Tyr  
20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 131

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 131

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

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

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 132

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Синтетична

<400> 132

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

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

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Leu Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 133

10 <211> 117

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

15 <400> 133

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

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

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 134

<211> 117

5 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструктор

<400> 134

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

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

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Met Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

10

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 135

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 135

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ile Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Ala Asn Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

10 <210> 136.

<211> 117

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

15 <223> Синтетичний конструкт

<400> 136

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ile Tyr

20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Phe Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 137

<211> 117

5 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 137

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

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

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

10

Val Thr Val Ser Ser

115

&lt;210&gt; 138

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; PRT

5 &lt;213&gt; Штучна послідовність

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Синтетичний конструкт

&lt;400&gt; 138

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

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

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

10 &lt;210&gt; 139

&lt;211&gt; 117

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Штучна послідовність

&lt;220&gt;

15 &lt;223&gt; Синтетичний конструкт

&lt;400&gt; 139

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Leu Ile Tyr  
 20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 140

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 140

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Lys Tyr Val Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

10

<210> 141

<211> 117

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 141

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

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

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Arg Tyr Val Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

5

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 142

<211> 117

<212> PRT

10

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 142

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Lys Tyr Leu Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

15



Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 143

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 143

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Lys Tyr Val Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

10 <210> 144

<211> 117

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

15 <223> Синтетичний конструкт

<400> 144

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Lys Tyr Leu Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 145

<211> 117

5 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 145

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

10 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 146

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 146

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

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

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

10

<210> 147

<211> 117

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

15

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 147

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
 20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Val Glu Lys Phe  
50 55 60  
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 148

<211> 117

5 <212> PRT

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструкт

<400> 148

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
20 25 30

10

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 149  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 149

5

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr
          20          25          30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Asp Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Phe
          50          55          60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65          70          75          80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
          100          105          110

Val Thr Val Ser Ser
          115
```

10

<210> 150  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 150

15

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr
          20          25          30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Phe
          50          55          60
```

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

- 5  
 <210> 151  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 151

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
 20 25 30

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

10  
 Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Val Glu Lys Phe  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

- 15  
 <210> 152  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Штучна послідовність  
 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 152

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Leu Ile Tyr  
20 25 30

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

Gly Asn Phe His Pro Tyr Leu Gly Val Thr Asn Tyr Leu Glu Lys Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Gly Thr Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 153

<211> 645

5 <212> ДНК

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Синтетичний конструктор

<400> 153

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcaacttgca gtgccagctc acgcgtaagt tccacttact tgttctggta tcagcagaaa 120

ccagggaag cccctaagct cctgatctat aggacatcca cctgacctc tggagtccca 180

tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa 240

cctgaagatt ttgcaactta ctattgtcag cagtggagtg gttaccatt cgtgttgggc 300

ggagggacca aggtggagat caaacggact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

10 tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

<210> 154  
<211> 23  
<212> PRT  
5 <213> Homo sapiens  
<400> 154

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  
20

<210> 155  
<211> 645  
10 <212> ДНК  
<213> Штучна послідовність  
<220>  
<223> Синтетичний конструкт  
<400> 155

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgca gtgccagctc acgcgtaagt tccacttact tgttctggta tcagcagaaa 120

ccagggaaag cccctaagct cctgatctat aggacatccc ccctggcctc tggagtccca 180

tcaaggttca gtggcagtgg atctgggaca gatttcactc tcaccatcag cagtctgcaa 240

cctgaagatt ttgcaactta ctattgtcag cagtggagtg gttacccatt cgtgttcggc 300

ggagggacca aggtggagat caaacggact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg cctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgc 645

<210> 156  
<211> 32  
<212> PRT  
20 <213> Homo sapiens  
<400> 156

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr  
1 5 10 15

Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys  
20 25 30



<210> 157  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 157

5

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  
 20 25

<210> 158  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 158

10

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

Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 20 25 30

<210> 159  
 <211> 23  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 159

15

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  
 20

<210> 160  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 160

20

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr  
 1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys  
 20 25 30

<210> 161  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 161

25

Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu  
 1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg  
 20 25 30

30

<210> 162  
 <211> 6  
 <212> ДНК  
 <213> Штучна послідовність  
 5 <220>  
 <223> Синтетичний конструкт  
 <400> 162  
 ctcac

10

## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Ізольоване антитіло, яке зв'язує людський гепсидин-25 зі зв'язувальною спорідненістю  $K_D$  приблизно 800 пМ або менше, яку визначають поверхневим плазмонним резонансом (SPR) при температурі 25 °C, і містить шість CDR, вибраних із групи, яку складають:
- 15 (i) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, які мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:52, SEQ ID NO:60, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:65, SEQ ID NO:71 та SEQ ID NO:75, відповідно;
- (ii) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, які мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:42, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:62, SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:87 та SEQ ID NO:46, відповідно;
- 20 (iii) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, які мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:84 та SEQ ID NO:46, відповідно;
- (iv) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, які мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:44 та SEQ ID NO:46, відповідно;
- 25 (v) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, які мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:53, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:85 та SEQ ID NO:46, відповідно; та
- 30 (vi) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 та HCDR3, які мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:63, SEQ ID NO:84 та SEQ ID NO:46, відповідно.
2. Антитіло за п. 1, яке **відрізняється** тим, що має швидкість дисоціації ( $k_{off}$ ) з людським гепсидином-25 від приблизно  $8,5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  до приблизно  $1,8 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ , яку визначають SPR при температурі 25 °C.
- 35 3. Антитіло за будь-яким із пп. 1-2, яке **відрізняється** тим, що має зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до людського гепсидину-25 від приблизно 400 пМ до приблизно 30 пМ, яку визначають SPR при температурі 25 °C.
4. Антитіло за будь-яким із пп. 1-3, яке **відрізняється** тим, що має зв'язувальну спорідненість  $K_D$  до людського гепсидину-25 від приблизно 200 пМ до приблизно 30 пМ, яку визначають SPR при температурі 25 °C.
- 40 5. Антитіло за будь-яким із пп. 1-4, яке **відрізняється** тим, що має значення  $IC_{50}$  від приблизно 100 пМ до приблизно 50 пМ у in vitro аналізі біологічної активності гепсидину-25.
6. Антитіло за будь-яким із пп. 1-5, яке **відрізняється** тим, що має значення  $IC_{50}$  від приблизно 100 пМ до приблизно 25 пМ у in vitro аналізі біологічної активності гепсидину-25.
- 45 7. Антитіло за п. 5, яке **відрізняється** тим, що шляхом аналізу визначена індукована гепсидином інтерналізація та/або деградація феропортину.
8. Антитіло за п. 6, яке **відрізняється** тим, що шляхом аналізу визначене індуковане IL-6 зниження рівня сироваткового заліза.
- 50 9. Антитіло за будь-яким із пп. 1-8, яке **відрізняється** тим, що воно є людським генноінженерним антитілом.
10. Антитіло за будь-яким із пп. 1-9, яке **відрізняється** тим, що воно містить константну ділянку важкого ланцюга, вибрану з групи, яку складають константна ділянка важкого ланцюга людського IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>4</sub> та її певний варіант, який має менше ніж приблизно 15
- 55 амінокислотних замінів, делецій або додань.
11. Антитіло за будь-яким із пп. 1-10, яке містить варіабельну ділянку важкого ланцюга (HCVR) та варіабельну ділянку легкого ланцюга (LCVR), де (i) HCVR та LCVR мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:148 та SEQ ID NO:126, відповідно; (ii) HCVR та LCVR мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID
- 60 NO:128 та SEQ ID NO:127, відповідно; (iii) HCVR та LCVR мають амінокислотні послідовності,

представлені послідовностями SEQ ID NO:150 та SEQ ID NO:124, відповідно; або (iv) HCVR та LCVR мають амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:151 та SEQ ID NO:125, відповідно.

12. Антитіло за будь-яким із пп. 1-11, яке містить важкий ланцюг та легкий ланцюг, які мають (i) амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:6 та SEQ ID NO:14, відповідно; (ii) амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:7 та SEQ ID NO:15, відповідно; (iii) амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:9 та SEQ ID NO:17, відповідно; або (iv) амінокислотні послідовності, представлені послідовностями SEQ ID NO:8 та SEQ ID NO:16, відповідно.
13. Антитіло за будь-яким із пп. 1-12, яке містить два поліпептиди важкого ланцюга і два поліпептиди легкого ланцюга, причому кожен із поліпептидів важкого ланцюга має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:8, і кожен із поліпептидів легкого ланцюга має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:16.
14. Антитіло за будь-яким із пп. 1-13, яке **відрізняється** тим, що каркас варіабельної ділянки легкого ланцюга та каркас варіабельної ділянки важкого ланцюга є повністю людськими.
15. Антитіло за пп. 1-14, яке **відрізняється** тим, що каркас варіабельної ділянки легкого ланцюга має менше ніж 5 амінокислотних замін, додань та делецій, порівняно з повністю людським каркасом O2 варіабельної ділянки легкого ланцюга.
16. Антитіло за пп. 1-14, яке **відрізняється** тим, що каркас варіабельної ділянки важкого ланцюга має менше ніж 7 амінокислотних замін, додань та делецій, порівняно з повністю людським каркасом VH1-69 варіабельної ділянки важкого ланцюга.
17. Антитіло за пп. 1-14, яке **відрізняється** тим, що каркас варіабельної ділянки легкого ланцюга вибраний з-посеред O2, O18 або L12.
18. Антитіло за пп. 1-14, яке **відрізняється** тим, що каркас варіабельної ділянки важкого ланцюга вибраний з-посеред VH1-69, VH1-18 або VH1-46.
19. Полінуклеотид, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує антитіло за будь-яким із пп. 1-18.
20. Полінуклеотид за п. 19, який містить нуклеотидну послідовність, яка кодує поліпептид легкого ланцюга, який має амінокислотну послідовність, представлену послідовностями SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16 або SEQ ID NO:17.
21. Полінуклеотид за п. 20, який містить нуклеотидну послідовність, представлену послідовностями SEQ ID NO:12 або SEQ ID NO:13.
22. Рекombінантний експресійний вектор, який містить полінуклеотид за будь-яким із пп. 19-21.
23. Клітина-хазяїн, трансформована вектором за будь-яким із пп. 19-22.
24. Клітина-хазяїн за п. 23, яка **відрізняється** тим, що згаданою клітиною є клітина яєчника китайського хом'ячка, клітина мієломи NS0, клітина COS або клітина SP2/0.
25. Антитіло за будь-яким із пп. 1-18 для застосування у терапії.
26. Антитіло за будь-яким із пп. 1-18 для лікування анемії.
27. Застосування антитіла за будь-яким із пп. 1-18 для лікування анемії.
28. Антитіло за будь-яким із пп. 1-18 для застосування при виготовленні лікарського засобу.
29. Застосування антитіла за будь-яким із пп. 1-18 для виготовлення лікарського засобу для лікування та/або запобігання анемії у суб'єкта.
30. Антитіло за будь-яким із пп. 1-18 для застосування з метою підвищення рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну або гематокриту у суб'єкта.
31. Застосування антитіла за будь-яким із пп. 1-18 для виготовлення лікарського засобу для підвищення рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну або гематокриту у суб'єкта.
32. Спосіб підвищення рівня сироваткового заліза, кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, рівня гемоглобіну та/або гематокриту, який включає введення суб'єкту ефективної кількості антитіла за будь-яким із пп. 1-18.
33. Спосіб лікування анемії у суб'єкта, який включає введення суб'єкту ефективної кількості антитіла за будь-яким із пп. 1-18.
34. Спосіб лікування анемії у суб'єкта, який включає введення суб'єкту ефективної кількості людського генноінженерного антитіла, яке містить i) поліпептид важкого ланцюга, який має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:8, та ii) поліпептид легкого ланцюга, який має амінокислотну послідовність, представлену послідовністю SEQ ID NO:16.
35. Спосіб одержання антитіла, який включає стадії: (i) культивування клітини-хазяїна за п. 23 або п. 24 за умов, прийнятних для уможливлення експресії згаданого антитіла; та (ii) виділення експресованого антитіла.

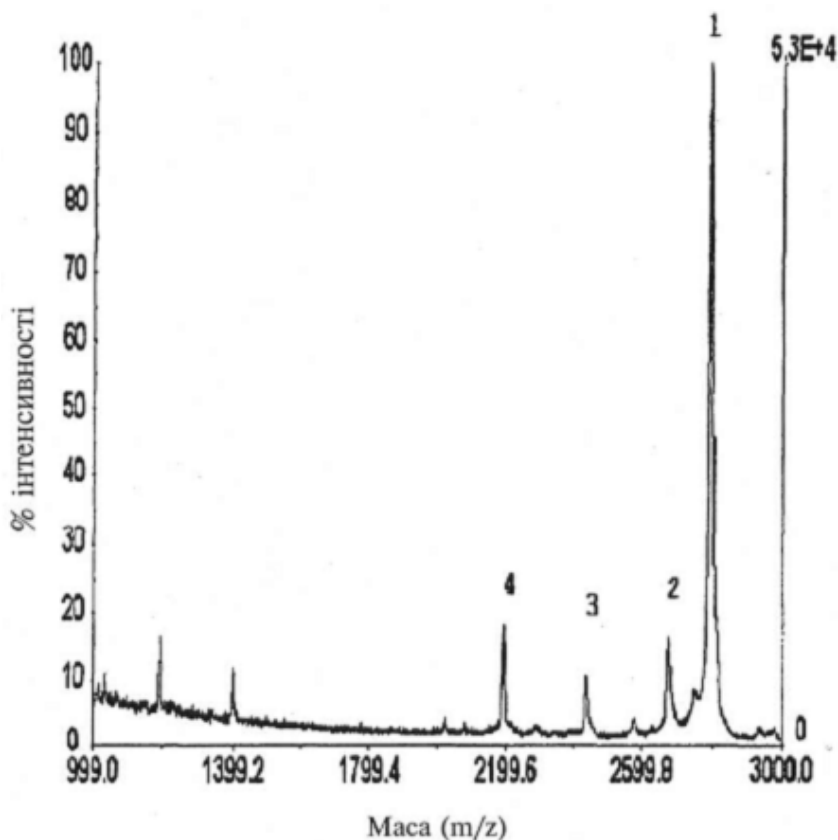
36. Антитіло, яке можна одержати способом за п. 35.

37. Фармацевтична композиція, яка містить антитіло за будь-яким із пп. 1-18 або п. 36 та фармацевтично прийнятний носій, розріджувач або наповнювач.

38. Імунологічний аналіз, який включає а) одержання зразка, призначеного для аналізу на зрілий людський гепсидин; б) введення в контакт згаданого зразка з антитілом за будь-яким із пп. 1-18 або п. 36 за відповідних умов для зв'язування антитіла і надання можливості будь-якому присутньому зрілому людському гепсидину утворення комплексу зі згаданим антитілом; та с) виявлення присутності або відсутності згаданого комплексу; та/або визначення кількості згаданого комплексу у зразку методом імунологічного виявлення.

39. Імунологічний аналіз за п. 38, який **відрізняється** тим, що згаданим методом імунологічного виявлення є твердофазний імуоферментний аналіз (ELISA), радіоімуноаналіз (RIA), імуногістохімічний (IHC) аналіз, імуофлуоресцентний (IF) аналіз, реакція аглютинації, вестерн-блотинг, дот-блотинг, слот-блотинг або метод поверхневого плазмонного резонансу.

40. Набір для проведення імунологічного аналізу, який включає в себе антитіло за будь-яким із пп. 1-18 або п. 36.



Піки:

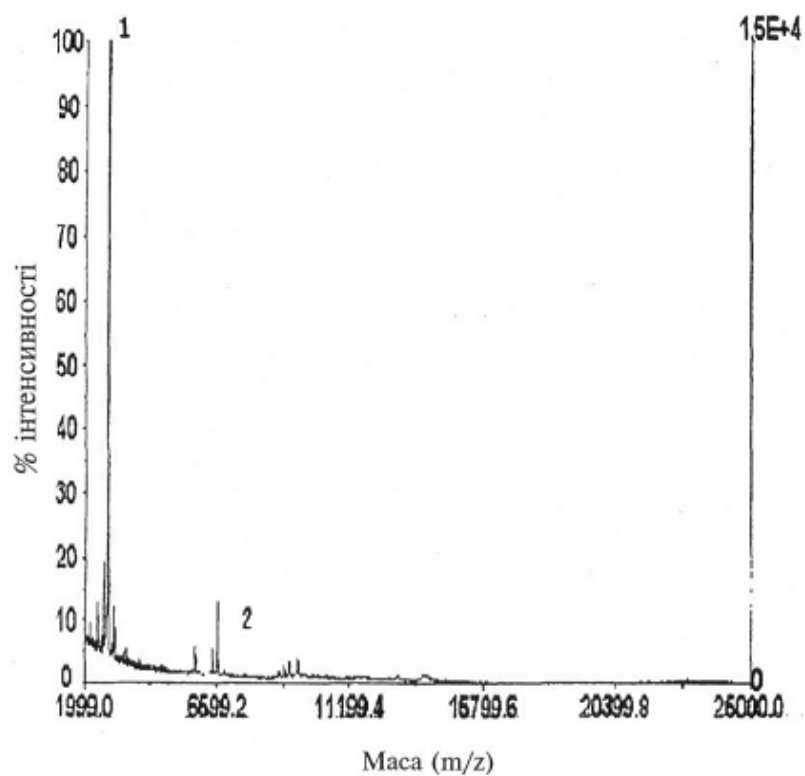
1. Гепсидин-25: молекулярна маса 2790;

2. Гепсидин-24: молекулярна маса 2674;

3. Гепсидин-22: молекулярна маса 2436;

4. Гепсидин-20: молекулярна маса 2192;

Фіг. 1



Піки:

1. Гепсидин-25 (25 амінокислот): молекулярна маса 2790;
2. Прогепсидин (60 амінокислот): молекулярна маса 6929;

Фіг. 2

A. Амінокислотна послідовність людського каркаса легкого ланцюга O2, що чергується із залишками CDR

40) **FRL1** (SEQ ID NO: 39) **FRL2** (SEQ ID NO:  
**LCDR1** **LCDR2**  
 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXX

**FRL3** (SEQ ID NO: 96) **FRL4** (SEQ ID  
 NO: 97)  
**LCDR3**  
 GVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCXXXXXXXXXFGGGTKVEIK

B. Амінокислотна послідовність людського каркаса важкого ланцюга VH1-69, що чергується із залишками CDR

36) **FRH1** (SEQ ID NO: 35) **FRH2** (SEQ ID NO:  
**HCDR1**  
 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASXXXXXXXXXXWVRQAPGQGLEWMG

**FRH3** (SEQ ID NO: 37)  
**HCDR2**  
 XXXXXXXXXXXXXXXXRVITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR

**FRH4** (SEQ ID NO: 38)  
**HCDR3**  
 XXXXXXXXWGQGTITVTVSS

Фиг. 3

A. Амінокислотна послідовність людського каркаса легкого ланцюга O18, що чергується із залишками CDR

FRL1 (SEQ ID NO: 154) FRL2 (SEQ ID NO: 40)  
LCDR1 LCDR2  
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXXXWYQQKPKAPKLLIYXXXXXX

FRL3 (SEQ ID NO: 156) FRL4 (SEQ ID NO: 97)  
LCDR3  
GVPSRFGSGSGTDFTFTISSLQPEDLATYYCXXXXXXXXXFGGGTKVEIK

B. Амінокислотна послідовність людського каркаса важкого ланцюга VH1-18, що чергується із залишками CDR

FRH1 (SEQ ID NO: 157) FRH2 (SEQ ID NO: 36)  
HCDR1  
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASXXXXXXXXXXWVRQAPGQGLEWMG

FRH3 (SEQ ID NO: 158)  
HCDR2  
XXXXXXXXXXXXXXXXXRVMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR

FRH4 (SEQ ID NO: 38)  
HCDR3  
XXXXXXXXXWGQGTTVTVSS

Залишки, що відрізняються від O2, виділені жирним шрифтом і підкреслені

Фиг. 4

A. Амінокислотна послідовність людського каркасу легкого ланцюгу L12, що чергується із залишками CDR

```

FRL1 (SEQ ID NO: 159)      FRL2 (SEQ ID NO:
40)
                                LCDR1      LCDR2
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCXXXXXXXXXXXXXWYQQKPGKAPKLLIYXXXXXX
FRL3 (SEQ ID NO: 160)      FRL4 (SEQ ID
NO:97)
                                LCDR3
GVPSRFGSGSGGTEFTLTISLQPDDFATYYCXXXXXXXXXFGGGTKVEIK

```

B. Амінокислотна послідовність людського каркасу важкого ланцюгу VH1-46, що чергується із залишками CDR

```

FRH1 (SEQ ID NO: 157)      FRH2 (SEQ ID NO: 36 )
                                HCDR1
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASXXXXXXXXXXWVRQAPGQGLEWMG
                                FRH3 (SEQ ID NO: 161)
HCDR2
XXXXXXXXXXXXXXXXXRVTMTRDTSTSTVYMELSLRSEDTAVYYCAR
FRH4 (SEQ ID NO: 38)
HCDR3
XXXXXXXXXWGQGTITVTVSS

```

Залишки, що відрізняються від O2, виділені жирним шрифтом і підкреслені

Fig. 5

---

Комп'ютерна верстка А. Рябо

---

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

---

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