

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201492149 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2015.03.31

(51) Int. Cl. C07K 16/28 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2013.05.17

(54) ST2-АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ

(31) 61/649,147; 61/792,619

(32) 2012.05.18; 2013.03.15

(33) US

(86) PCT/US2013/041656

(87) WO 2013/173761 2013.11.21

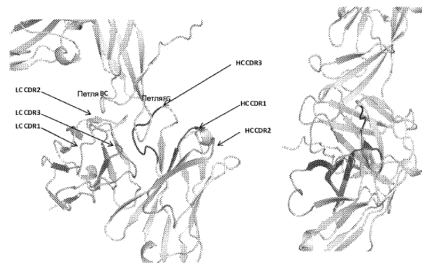
(88) 2014.02.20

(71) Заявитель:
ЭМДЖЕН ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Смит Дирк Е. (US), Фолтц Ян, Кинг
Чэдвик Т. (CA), Лим Ан Чин, Кларк
Рутилио, Комо Майкл Р., Кетчем
Роналд Р., Си Дунхой, Минь Сяошань,
Ван Чжунлунь (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) В данном документе описаны составы и методы, относящиеся к антигенсвязывающим белкам, которые связываются с человеческим ST2, включая антитела. В конкретных вариантах осуществления изобретения предложены полностью человеческие антитела к ST2, а также их производные и варианты. Дополнительно предложены нуклеиновые кислоты, кодирующие такие антитела и фрагменты, варианты и производные антител. Также предложены способы получения и применения таких антител, включая способы лечения и предотвращения аутоиммунных и воспалительных заболеваний.



A1

201492149

201492149

A1

ST2-АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ**ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США № 61/792,619, поданной 15 марта 2013 г., и предварительной заявке на патент США № 61/649,147, поданной 18 мая 2012 г., которые в полном объеме включены в данное описание посредством ссылки.

ССЫЛКА НА СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящая заявка подается вместе со Списком последовательностей в электронном формате через EFS-Web. Список последовательностей подан в виде текстового файла под названием A1712WOPCT_ST25.txt, созданного 17 мая 2013 г., размер которого составляет 189804 байт. Информация электронного формата Списка последовательностей в полном объеме включена в данное описание посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] ST2 представляет собой связывающий рецептор для интерлейкина-33 (IL-33) - цитокина, родственного IL-1 и IL-18, также известного как NF-HEV или IL-1F11. ST2 экспрессируется как в виде растворимого несигнального варианта (растворимый ST2 или sST2), так и в полноразмерной трансмембранной форме (FL ST2, ST2 или ST2L), которая опосредует клеточные ответы на IL-33. Последняя форма экспрессируется в широком диапазоне типов клеток и напрямую связана с патологическими воспалениями при большом количестве болезненных состояний. Она включает лимфоциты, в частности, экспрессирующие IL-5 и IL-13 Т-хелперные клетки, натуральные клетки-киллеры (NK) и натуральные Т-киллеры (NKT), а также многие так называемые природные иммунные клетки, такие как тучные клетки, базофилы, эозинофилы, макрофаги и природные хелперные клетки (также известные как нуоциты (Neill, Wong et al. 2010)). Связывание IL-33 с ST2 на этих клетках приводит к накоплению широко экспрессируемого корецептора, известного как IL-1R акцессорный белок (AcP), и активации провоспалительных сигнальных путей, схожих с IL-1 и

IL-18. Таким образом, IL-33 способен прямо активировать клетки, экспрессирующие ST2, или усиливать их активацию в присутствии других активационных стимулов. Примеры индуцированных IL-33 клеточных ответов включают выработку воспалительных цитокинов, таких как IL-5, IL-6, IL-13, TNF, IFN- γ и GM-CSF, а также выработку хемокинов, таких как CXCL8, CCL17 и CCL24. Также было показано, что IL-33 усиливает острые аллергические реакции посредством накопления тучных клеток и активации базофилов, инициируемых передачей сигнала рецептором IgE либо другими активаторами тучных клеток и базофилов. Также IL-33 увеличивает накопление, выживаемость и адгезивные свойства иммунных клеток, экспрессирующих ST2, и, таким образом, является важным компонентом, который вызывает и поддерживает клеточное воспаление в местных тканях.

[0004] Провоспалительное воздействие IL-33 на природные и адаптивные иммунные клетки приводит к возбуждению большого количества патологических процессов. В легких они включают воспаление дыхательных путей, образование слизи, гипервосприимчивость дыхательных путей и фиброзное ремоделирование. Также IL-33 может привести к местному воспалению в суставах, а также к кожной и суставной гиперноцицепции, посредством стимуляции выработки провоспалительных цитокинов (Verri, Guerrero et al. 2008; Xu, Jiang et al. 2008). Избыток IL-33 связывают с патологическим отложением коллагена и фиброзом, также он приводит к повреждению эпителия при воспалительном заболевании кишечника. Вследствие своего сильного воздействия на базофилы и IgE-сенсibilизированные тучные клетки, IL-33 также может вызывать анафилактический шок (Pushparaj, Tay et al. 2009) и может играть значительную роль при аллергических заболеваниях. Многие из этих заболеваний по своей природе являются хроническими и прогрессирующими и трудно поддаются лечению, соответственно, существует потребность в более эффективных способах лечения.

[0005] Согласно документально подтвержденным данным по биологическому воздействию существует несколько свидетельств

того, что каскад реакций IL-33/ST2 приводит к заболеваниям человека. Например, аномально высокую экспрессию IL-33 обнаруживают при заболеваниях, сопровождающихся воспалением слизистых оболочек и воспалением суставов. Такие заболевания включают астму (Prefontaine, Lajoie-Kadoch et al. 2009; Prefontaine, Nadigel et al. 2010), воспалительное заболевание кишечника (Beltran, Nunez et al. 2010; Pastorelli, Garg et al. 2010; Sponheim, Pollheimer et al. 2010) и ревматоидный артрит (Palmer, Talabot-Ayer et al. 2009; Matsuyama, Okazaki et al. 2010). Экспрессия IL-33 повышена в пораженной псориазом коже (Theoharides, Zhang et al. 2010) и коже пациентов с атопическим дерматитом (Pushparaj, Tay et al. 2009), а также увеличена при патологических случаях фиброза, таких как системная склеродермия (Yanaba, Yoshizaki et al. 2011) (Manetti, Ibba-Manneschi et al. 2009) и фиброзе печени (Marvie, Lisbonne et al. 2009). Также концентрация циркулирующего растворимого ST2 повышена во многих случаях заболеваний, что дополнительно указывает на связь между каскадом реакций данного цитокина и этими заболеваниями. Примеры включают астму (Kuroiwa, Arai et al. 2001; Oshikawa, Kuroiwa et al. 2001; Ali, Zhang et al. 2009), хроническое обструктивное заболевание легких (Hacker, Lambers et al. 2009), фиброз легких (Tajima, Oshikawa et al. 2003), сепсис и травмы (Brunner, Krenn et al. 2004), ВИЧ-инфекцию (Miyagaki, Sugaya et al. 2011), системную красную волчанку (Mok, Huang et al. 2010), воспалительное заболевание кишечника (Beltran, Nunez et al. 2010), а также ревматоидный артрит, склероз, гранулематоз Вегенера и болезнь Бехчета (Kuroiwa, Arai et al. 2001) и сердечно-сосудистые заболевания (Shah and Januzzi 2010). IL-33 усиливает эозинофильное воспаление, помимо этого существуют свидетельства того, что данный каскад реакций имеет отношение к эозинофильным заболеваниям, таким как риносинусит и назальный полипоз (Plager, Kahl et al. 2010), а также эозинофильный бронхит (Oshikawa, Kuroiwa et al. 2001).

[0006] Дополнительные свидетельства, связывающие каскад реакций IL-33/ST2 с заболеваниями человека, предоставлены

генетическими исследованиями, в которых было обнаружено наличие полиморфизма гена IL-33 и/или ST2 в общей популяции, которые в значительной степени связаны с повышенным риском заболевания или параметрами тяжести заболевания. В нескольких крупных общегеномных исследованиях генетическую вариацию в ST2 (IL1RL1) или IL-33 связывали с повышенным риском астмы (Gudbjartsson, Bjornsdottir et al. 2009; Moffatt, Gut et al. 2010; Wu, Romieu et al. 2010), а в других исследованиях на генетическом уровне данный каскад реакций связывали с повышенной степенью тяжести астмы (Ali, Zhang et al. 2009) и бронхиальной гиперчувствительностью (Reijmerink, Postma et al. 2008). Сходные исследования показали, что данный каскад реакций на генетическом уровне имеет отношение к аллергическим заболеваниям, таким как атопический дерматит (Shimizu, Matsuda et al. 2005), риносинусит (Sakashita, Yoshimoto et al. 2008; Castano R 2009), а также назальный полипоз (Buysschaert, Grulois et al. 2010).

[0007] В совокупности эти данные связаны с несколькими заболеваниями человека и способностью этого цитокина стимулировать многие формы опасных воспалительных процессов, что делает его подходящей мишенью для терапевтического вмешательства.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] В изобретении предложены анти-ST2 антигенсвязывающие белки, например, антитела и их функциональные фрагменты, обладающие свойствами, подходящими для коммерческого производства и терапевтического применения для человека. В особенности применение анти-ST2 антигенсвязывающих белков целесообразно в способах лечения заболеваний и нарушений, связанных с системой IL-33/ST2. В данном описании предложены ST2-связывающие антитела, которые связывают ST2 с высокой аффинностью и эффективно блокируют связывание IL-33, тем самым снижая IL-33-опосредованную передачу сигнала в клетке.

[0009] В первом аспекте осуществления ST2-антигенсвязывающий белок содержит а) вариабельный домен легкой

цепи, являющийся по меньшей мере на 90% идентичным, по меньшей мере на 95% идентичным или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165; b) переменный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90% идентичным, по меньшей мере на 95% идентичным или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147; или c) переменный домен легкой цепи согласно a) и переменный домен тяжелой цепи согласно b) .

[0010] Предпочтительные антигенсвязывающие белки в первом аспекте осуществления включают те, которые содержат переменный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, и переменный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:96, и переменный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:30; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:97, и переменный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:31; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по

те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:104, и вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:38; те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:105, и вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:39; те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:163, и вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:145; те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:164, и вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:146; и те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:165, и вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:147.

[0011] Во втором аспекте осуществления ST2-антигенсвязывающий белок содержит а) вариабельный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно

аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165; b) переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147; или c) переменный домен легкой цепи согласно a) и переменный домен тяжелой цепи согласно b).

[0012] Предпочтительные антигенсвязывающие белки во втором аспекте осуществления включают те, которые содержат переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:96, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:30; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:97, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:31; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти

[illegible]

[illegible]

и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:147.

[0013] В третьем аспекте осуществления ST2-антигенсвязывающий белок содержит переменный домен легкой цепи, содержащий а) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:106; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:117; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:128; б) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:107; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:118; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:129; в) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:108; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:119; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:130; г) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:109; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:120; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:131; д) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных

[illegible]

[illegible]

вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:61; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:72; z) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:148; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:151; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:154; aa) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:149; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:152; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:155; или bb) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:150; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:153; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:156.

[0014] Предпочтительные ST2-антигенсвязывающие белки в третьем аспекте осуществления включают те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно а) и переменный домен тяжелой цепи согласно о); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно b) и переменный домен тяжелой цепи согласно p); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно с) и переменный домен тяжелой цепи согласно q); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно d) и переменный домен тяжелой цепи согласно r); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно e) и

вариабельный домен тяжелой цепи согласно s); те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи согласно f) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно t); те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи согласно g) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно u); те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи согласно h) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно v); те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи согласно i) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно w); те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи согласно j) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно x); те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи согласно k) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно y); те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи согласно l) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно z); те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи согласно m) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно aa); и те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи согласно n) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно bb).

[0015] В четвертом аспекте осуществления изобретения ST2-антигенсвязывающий белок согласно первому, второму или третьему аспекту связывается с человеческим ST2 с аффинностью, меньшей или равной 1×10^{-10} М.

[0016] В пятом аспекте осуществления изобретения ST2-антигенсвязывающий белок согласно первому, второму, третьему или четвертому аспекту подавляет связывание человеческого ST2 с человеческим IL-33.

[0017] В шестом аспекте осуществления изобретения ST2-антигенсвязывающий белок согласно первому, второму, третьему, четвертому или пятому аспекту снижает IL-33-опосредованную передачу сигнала ST2 человека в экспрессирующих ST2 клетках человека.

[0018] В седьмом аспекте осуществления изобретения ST2-антигенсвязывающий белок согласно шестому аспекту снижает IL-33-опосредованную передачу сигнала ST2 яванского макака в

экспрессирующих ST2 клетках яванского макака.

[0019] В восьмом аспекте осуществления изобретения ST2-антигенсвязывающий белок согласно первому, второму, третьему, четвертому, пятому, шестому или седьмому аспекту является антителом, таким как антитело человека. Предпочтительные антитела включают такие антитела, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:84, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:18; те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:85, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19; те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:86, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:20; те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:87, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:21; те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:88, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:22; те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:89, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:23; те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:90, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:24; те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:91, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:25; те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:92, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:26; те, которые содержат легкую цепь,

содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:93, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:27; те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:94, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:28; те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:160, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:142; те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:161, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:143; и те, которые содержат легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:162, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:144.

[0020] В девятом аспекте осуществления в изобретении предложены выделенные нуклеиновые кислоты, кодирующие один или более полипептидных компонентов ST2-антигенсвязывающего белка, например, легкую цепь антитела или тяжелую цепь антитела. В предпочтительных вариантах осуществления нуклеиновая кислота кодирует полипептид, содержащий:

[0021] а) переменный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165;

[0022] б) переменный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147;

[0023] в) переменный домен легкой цепи, содержащий не

более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165;

[0024] d) переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147;

[0025] e) переменный домен легкой цепи, содержащий:

[0026] i) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:106; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:117; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:128;

[0027] ii) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:107; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:118; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:129;

[0028] iii) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:108; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:119; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или

замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:172;

[0038] xiii) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:167; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:170; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:173; или

[0039] xiv) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:168; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:171; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:174; или

[0040] f) переменный домен тяжелой цепи, содержащий:

[0041] i) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:40; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:51; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:62;

[0042] ii) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:41; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:52; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:63;

[0043] iii) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных

содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или
замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ
ID NO:68;

[0048] viii) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:47; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:58; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:69;

[0049] ix) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:48; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:59; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:70;

[0050] х) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:49; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:60; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:71;

[0051] xi) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:50; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:61; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:72;

[0052] xii) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных

вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:148; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:151; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:154;

[0053] xiii) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:149; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:152; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:155; или

[0054] xiv) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:150; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:153; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:156.

[0055] В определенных вариантах осуществления девятого аспекта полипептид кодирует легкую цепь антитела и является по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или на 100% идентичным нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:158 или SEQ ID NO:159. В других вариантах осуществления девятого аспекта полипептид кодирует тяжелую цепь антитела и является по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или на 100% идентичным нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID

NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:139, SEQ ID NO:140 или SEQ ID NO:141.

[0056] В десятом аспекте осуществления в изобретении предложен вектор экспрессии, содержащий одну или более выделенных нуклеиновых кислот согласно восьмому аспекту. В определенных вариантах осуществления вектор экспрессии кодирует легкую цепь антитела, тяжелую цепь антитела либо и легкую цепь, и тяжелую цепь антитела.

[0057] В одиннадцатом аспекте осуществления в изобретении предложена клетка-хозяин, содержащая одну или более выделенных нуклеиновых кислот согласно девятому аспекту, функционально связанных с промотором, включая рекомбинантные клетки-хозяева, содержащие один или более векторов экспрессии согласно десятому аспекту реализации изобретения. В предпочтительных вариантах осуществления рекомбинантная клетка-хозяин секретирует антитело, которое связывает ST2. Предпочтительными клетками-хозяевами являются клетки-хозяева млекопитающих, включая клеточные линии CHO.

[0058] В двенадцатом аспекте осуществления в изобретении предложены способы лечения аутоиммунных или воспалительных заболеваний, при этом данный способ включает введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества ST2-антигенсвязывающего белка согласно любому аспекту из первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого или восьмого. В предпочтительных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок представляет собой антитело, содержащее аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:95, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:29 (например, Ab1), антитело, содержащее аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:96, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:30 (например, Ab2), антитело, содержащее аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:97, и

[illegible]

аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:145 (например, Ab30); антитело, содержащее аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:164, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:146 (например, Ab32); или антитело, содержащее аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:165, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:147 (например, Ab33). В предпочтительных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок подавляет связывание IL-33 с ST2. В особенно предпочтительных вариантах осуществления аутоиммунным или воспалительным заболеванием является астма, воспалительное заболевание кишечника, ревматоидный артрит, псориаз, атопический дерматит, фиброз, хроническое обструктивное заболевание легких, системная красная волчанка, склероз, гранулематоз Вегенера, болезнь Бехчета, риносинусит, назальный полипоз, эозинофильный бронхит и сердечно-сосудистое заболевание.

[0059] В тринадцатом аспекте осуществления в изобретении предложен способ получения ST2-антигенсвязывающего белка согласно любому аспекту из первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого или восьмого, путем культивирования рекомбинантной клетки-хозяина согласно одиннадцатому аспекту и выделению из указанной культуры ST2-антигенсвязывающего белка.

[0060] В четырнадцатом аспекте осуществления в изобретении предложены ST2-антигенсвязывающие белки согласно любому аспекту из первого, второго, третьего, четвертого, пятого, шестого, седьмого или восьмого, которые перекрестно конкурируют с антителом, выбранным из группы, состоящей из:

[0061] а) антитела, содержащего легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:84, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:18;

[0071] к) антитела, содержащего легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:94, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:28;

[0072] л) антитела, содержащего легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:160, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:142;

[0073] м) антитела, содержащего легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:161, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:143; и

[0074] н) антитела, содержащего легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:162, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:144.

[0075] В пятнадцатом аспекте осуществления в изобретении предложен выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, предпочтительно являющийся антителом или его функциональным фрагментом, который связывает полипептид, содержащий домен 1 и домен 2 человеческого ST2 (SEQ ID NO:175), где связывание в значительной степени подавляется в случае введения одиночной мутации в домен 1 и домен 2 человеческого ST2 данного полипептида, где одиночная мутация выбрана из группы, состоящей из L14R, I15R, S33R, E43R, V47R, A62R, G65R, T79R, D92R, D97R, V104R, G138R, N152R и V176R. Под выражением "в значительной степени подавляется" подразумевается то, что измеренная разница в связывании является статистически значимой. В предпочтительных вариантах осуществления связывание в значительной степени подавляется для двух или более представителей группы, включая всех представителей группы. В определенных вариантах осуществления пятнадцатого аспекта связывание в значительной степени активируется в случае введения одиночной мутации в домен 1 и домен 2 человеческого ST2 данного полипептида, где одиночная мутация выбрана из группы, состоящей из L53R, R72A и S73R. Под "в значительной

степени активируется" подразумевается то, что измеренная разница в связывании является статистически значимой. В предпочтительных вариантах осуществления связывание в значительной степени активируется для всех представителей группы. В определенных вариантах осуществления пятнадцатого аспекта ST2-связывающий белок перекрестно конкурирует за связывание с человеческим ST2 с антителом, содержащим легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:85, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19. В особенно предпочтительных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок является антигенсвязывающим белком согласно первому, второму, третьему, четвертому, пятому, шестому, седьмому или восьмому аспекту.

[0076] В шестнадцатом аспекте осуществления в изобретении предложен антигенсвязывающий белок согласно первому, второму, третьему, четвертому, пятому, шестому, седьмому, восьмому, четырнадцатому или пятнадцатому аспекту, где указанный ST2-связывающий белок предпочтительно представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, связывает часть ST2, содержащую аминокислоты 33-44 и/или 88-94 из SEQ ID NO:1, что определено при помощи анализа водородно-дейтериевого обмена.

[0077] В семнадцатом аспекте осуществления в изобретении предложен антигенсвязывающий белок, предпочтительно являющийся антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, согласно первому, второму, третьему, четвертому, пятому, шестому, седьмому, восьмому, четырнадцатому, пятнадцатому или шестнадцатому аспекту, который связывается с ST2 с образованием области контакта, где область контакта, образованная при указанном связывании, содержит остаток ST2, выбранный из группы, состоящей из K1, F2, P19, R20, Q21, G22, K23, Y26, I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79 и Y81. В предпочтительных вариантах осуществления область контакта, образованная при указанном связывании, содержит остаток ST2, выбранный из P19, R20, Q21, G22, K23, и/или Y26, остаток ST2, выбранный из I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79,

и/или Y81, или остатки ST2, выбранные из P19, R20, Q21, G22, K23, Y26, I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79 и Y81. Область контакта можно определить по разнице в площади поверхности, доступной для растворителя, между связанным и несвязанным ST2, и остатки из области контакта определяют как те аминокислоты, которые характеризуются разницей более 10%, и те, которые образуют опосредованные водой водородные связи с указанным антителом, либо определяют как те аминокислоты, которые содержат по меньшей мере один атом в пределах 5Å от антитела.

[0078] В восемнадцатом аспекте осуществления в изобретении предложен выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, предпочтительно являющийся антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, содержащий а) вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:96, b) вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:30; c) вариабельный домен легкой цепи согласно а) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно b), d) вариабельный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:96; e) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:30; f) вариабельный домен легкой цепи согласно d) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно e), g) вариабельный домен легкой цепи, содержащий LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:107; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:118; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности

LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:129, h) переменный домен тяжелой цепи, содержащий HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:41; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:52; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:63, или i) переменный домен легкой цепи согласно g) и переменный домен тяжелой цепи согласно h).

[0079] В предпочтительных вариантах осуществления восемнадцатого аспекта переменный участок легкой цепи содержит D28 или его консервативную замену, I29 или его консервативную замену, S30 или его консервативную замену, N31 или его консервативную замену, Y32 или его консервативную замену, Y49 или его консервативную замену, D50 или его консервативную замену, N53 или его консервативную замену, E55 или его консервативную замену, T56 или его консервативную замену, D91 или его консервативную замену, D92 или его консервативную замену, N93 или его консервативную замену, F94 или его консервативную замену или L96 или его консервативную замену. В других предпочтительных вариантах осуществления переменный участок легкой цепи содержит D28 или его консервативную замену, N31 или его консервативную замену, D50 или его консервативную замену, N53 или его консервативную замену, E55 или его консервативную замену, D91 или его консервативную замену и D92 или его консервативную замену. В других предпочтительных вариантах осуществления переменный участок легкой цепи содержит D28, N31, D50, N53, E55, D91 и D92.

[0080] В восемнадцатый аспект реализации также включены ST2-связывающие белки, предпочтительно антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, где переменный участок тяжелой цепи содержит W33 или его консервативную замену, I50 или его консервативную замену, D57 или его консервативную замену, R59

или его консервативную замену, H99 или его консервативную замену, G100 или его консервативную замену, T101 или его консервативную замену, S102 или его консервативную замену, S103 или его консервативную замену, D104 или его консервативную замену, Y105 или его консервативную замену или Y106 или его консервативную замену; где переменный участок тяжелой цепи содержит S102 или его консервативную замену, S103 или его консервативную замену, D104 или его консервативную замену и Y105 или его консервативную замену; и где переменный участок тяжелой цепи содержит S102, S103, D104 и Y105.

[0081] В определенных вариантах осуществления восемнадцатого аспекта ST2-антигенсвязывающий белок специфически связывает человеческий ST2 с аффинностью, меньшей или равной 1×10^{-10} М, подавляет связывание человеческого ST2 с человеческим IL-33, снижает IL-33-опосредованную передачу сигнала ST2 человека в экспрессирующих ST2 клетках человека, подавляет связывание ST2 яванского макака с IL-33 яванского макака, снижает IL-33-опосредованную передачу сигнала ST2 яванского макака в экспрессирующих ST2 клетках яванского макака и/или является антителом, таким как антитело человека.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

[0082] ФИГ.1 Обработка ST2 mAb приводит к значительному подавлению IL-33-индуцированного IL-5 в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (BALF) мышей штаммов Balb/c и C57Bl/6.

[0083] ФИГ.2 Обработка ST2 mAb является эффективной в индуцированной тараканьим аллергеном (CRA) модели астмы. У обработанных антителом к ST2 мышей наблюдали значительно меньшее количество эозинофилов BALF, чем у мышей изотипического контроля, обработанных Ig.

[0084] ФИГ.3 Подавление ST2 mAb IL-33-индуцированной выработки IL-5 человека из CD4+ Т-клеток, полученных от разных доноров. Линия (—) отображает значения для положительного контроля человеческого IL-33 в комбинации с человеческим IL-2 в отсутствие подавления. (····) отображает значения для

положительного контроля человеческого IL-2. Линия (--) отображает значения для контроля среды.

[0085] ФИГ.4 Анализ зависимости доза-ответ для человеческого IL-33 в человеческих NK-клетках.

[0086] ФИГ.5 Снижение активности IL-33 вследствие воздействия Ab2, зарегистрированное при анализе человеческих NK-клеток, по сравнению с коммерчески доступными антителами к ST2. Клоны HB12, FB9 и 2A5 получили от международной корпорации MBL. Клон B4E6 получили от MD Biosciences. Клон 97203 получили от R&D Systems.

[0087] ФИГ.6 Расположение участков ST2, связанных Ab2, определенных при помощи HDX (см. Пример 12). Участок, соответствующий аминокислотам 15-26 внеклеточного домена ST2, выделен красным, а участок, соответствующий аминокислотам 70-76 внеклеточного домена ST2 выделен фуксиновым.

[0088] ФИГ.7 Общая структура комплекса ST2/Ab2 sc-dsFv. На фигуре приведено изображение двух молекул Ab2 sc-dsFv, с окрашенной соответственно в циановый/голубой или светло-желтый/золотистый парой легкая цепь (LC)/тяжелая цепь (HC). Две молекулы ST2 изображены в фуксиновом и зеленом цветах.

[0089] ФИГ.8 Область связывания. ST2 изображен в желтом цвете. Тяжелая цепь и легкая цепь Ab2 показаны в сером и пшеничном цветах. Петли CDR для тяжелой цепи и легкой цепи окрашены в следующем порядке: CDR1: красным (HC) или светло-красным (LC); CDR2: зеленым (HC) или светло-зеленым (LC); и CDR3: голубым (HC) или светло-голубым (LC).

[0090] ФИГ.9 Карта распределения электростатического поверхностного потенциала для ST2 и Ab2 sc-dsFv. ФИГ.9А) Комплементарность заряда и поверхности для ST2 и Ab2 sc-dsFv. Область связывания обведена кругом. ФИГ.9В) Левая часть: Ab2 (серый/пшеничный цвет) связывается с положительно заряженным участком на (поверхности) ST2; Правая часть: ST2 (желтый цвет) связывается с кислотным участком (поверхности) Ab2 sc-dsFv. На карте распределения электростатического потенциала поверхность красного цвета соответствует отрицательному заряду, а поверхность голубого цвета соответствует положительному заряду.

[0091] ФИГ.10 Остатки в пределах переменных доменов Ab2, которые образуют область контакта с ST2 при связывании с антигеном. Участки CDR обведены. Остатки в пределах области контакта выделены жирным текстом. Остатки, которые образуют водородные связи или соляные мостики с аминокислотами в пределах ST2, выделены курсивом.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0092] Используемые в данном документе заголовки разделов приведены в целях структурирования и не ограничивают описываемого предмета изобретения. Все работы, перечисленные в данном описании, в полном объеме включены в документ посредством ссылки.

[0093] Для синтеза рекомбинантных ДНК и олигонуклеотидов, культивирования и трансформации тканей, очистки белка и т.д. можно использовать общепринятые методы. Ферментативные реакции и очистку можно проводить согласно инструкциям производителя или способами, являющимися общепринятыми в данной области техники или описанными в данном документе. Нижеприведенные процедуры и способы в общем случае можно осуществить согласно широкоизвестным в данной области техники стандартным методам, которые описаны во многих общих и более специализированных работах, которые перечислены и обсуждаются в описании изобретения. См., например, Sambrook et al., 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., которая включена в данное описание посредством ссылки для использования в любых целях. В случае если не приведены отдельные определения, терминология, а также лабораторные процедуры и методы аналитической химии, органической химии, медицинской и фармацевтической химии, которые описаны в данном описании, являются широкоизвестными и общеупотребимыми в данной области техники. Для химического синтеза, химического анализа, фармацевтического получения, составления рецептуры, а также доставки препаратов и лечения пациентов можно использовать стандартные методы.

ST2

[0094] Описанные в данном документе антигенсвязывающие белки связываются с ST2. ST2 экспрессируется как в виде растворимого несигнального варианта (растворимый ST2 или sST2), так и в полноразмерной трансмембранной форме (FL ST2, ST2 или ST2L). Пример аминокислотной последовательности человеческого ST2L приведен в Таблице 1. Белок состоит из нескольких доменов: Аминокислоты 1-18 соответствуют лидерной последовательности, которая может отщепляться во время процессинга белка в клетках млекопитающих; аминокислоты 19-331 соответствуют внеклеточному домену; аминокислоты 332-350 соответствуют трансмембранному домену; а аминокислоты 351-556 соответствуют внутриклеточному домену. В предпочтительных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок связывается с внеклеточным доменом ST2L и предотвращает взаимодействие ST2 с IL-33. Пример аминокислотной последовательности человеческого IL-33 приведен в Таблице 1.

[0095] Передача сигнала IL-33 осуществляется через гетеродимерный рецептор, содержащий ST2L и АсР. Пример аминокислотной последовательности человеческого АсР приведен в Таблице 1. Этот белок также состоит из нескольких доменов: аминокислоты 1-20 соответствуют лидерной последовательности, которая может отщепляться во время процессинга белка в клетках млекопитающих; аминокислоты 21-367 соответствуют внеклеточному домену; аминокислоты 368-388 соответствуют трансмембранному домену; а аминокислоты 389-570 соответствуют внутриклеточному домену. В примерах, иллюстрирующих Варианты осуществления, ST2-антигенсвязывающий белок связывает ST2L и препятствует IL-33-опосредованной передаче сигнала в клетках, экспрессирующих ST2L и АсР.

Таблица 1

Аминокислотная последовательность человеческого ST2 (SEQ ID NO:1)
MGFWILAILTILMYSTAAKFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQTNKSIPTQE RNRVFASGQLLKFLPAXVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMYSTV SGSEKNSKIYCPTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYRAHKSFLVIDNVMTEADAGDYTCKF

IHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSLFPVIGAPAQNEIKEVEIGKNANLTCSACFGKGTQ FLAAVLWQLNGTKITDFGEPRIQQEEGQNQSFNGLACLDMLVRIADVKEEDLLLQYDCLA LNLHGLRRHTVRLSRKNPIDHHSIYCI IAVCSVFLMLINVLVIIILKMFWIEATLLWRDIAK PYKTRNDGKLYDAYVVYPRNYKSSTDGASRVEHFVHQILPDVLENKCGYTLCIYGRDMLPG EDVVTAVETNIRKSRRHIFILTPQIITHNKEFAYEQEVALHCALI QNDAKVILIEMEALSEL DMLQAEALQDSLQHLMKVQGTIKWREDHIANKRSLNSKFWKHVRYQMPVPSKIPRKASSLT PLAAQKQ X = E или A
Аминокислотная последовательность человеческого AcP (SEQ ID NO:2)
MTLLWCVVSLYFYGILQSDASERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYSTA HSAGLTLIYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLFWRPTLLNDTGNYTCLMRNTTYC SKVAFPLEVVQKDSCFNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMGCYK IQNFNNVIPEGMNLNFLIALISNNGNYTCVVTPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPV IHSPNDHVVEKEPEGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHS RTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAAKVQKVPAPRYTVELACGFGA TVLLVVILIVVYHVYWLEMLFYRAHFGTDETILDGKEYDIYVSYARNAEEEEFVLLTLRG VLENEFGYKLCIFDRDSLPGGIVTDETLSTFIQKSRLLVVLSPNYVLQGTQALLELKAGLE NMASRGNINVILVQYKAVKETKVVELKRAKTVLTVIKWKGEKSKYPQGRFWKQLQVAMPVK KSPRRSSSDEQGLSYSSLKNV
Аминокислотная последовательность человеческого IL-33 (SEQ ID NO:3)
MKPKMKYSTNKKISTAKWKNTASKALCFKLGKSQQKAKEVCPMYFMKLRSGLMIKKEACYFR RETTKRPSLKTGRKHKRHLVLAACQQQSTVECFAGISGVQKYTRALHDSSITGISPITEY LASLSTYNDQSITFALEDESYEIIYVEDLKKDEKKDKVLLSYYESQHPSNESGDGVDGKMLM VTLSPTKDFWLHANNKEHSVELHKCEKPLPDQAFFVLHNMHSNCVSECKTDPGVFIGVKD NHLALIKVDSSSENLCCTENILFKLSET

[0096] В примерах, иллюстрирующих Варианты осуществления настоящего изобретения, происходит высокоаффинное связывание как человеческого ST2, так и ST2 яванского макака, включая те случаи, когда происходит высокоаффинное связывание и блокируется взаимодействие IL-33 яванского макака с ST2 яванского макака. Эти характеристики обеспечивают информативное токсикологическое исследование на приматах за исключением человека.

[0097] Пример аминокислотной последовательности ST2L яванского макака приведен в Таблице 2. Данный белок состоит из нескольких доменов: аминокислоты 1-18 соответствуют лидерной последовательности, которая может отщепляться во время процессинга белка в клетках млекопитающих; аминокислоты 19-331 соответствуют внеклеточному домену; аминокислоты 332-350

соответствуют трансмембранному домену; а аминокислоты 351–556 соответствуют внутриклеточному домену.

[0098] Пример аминокислотной последовательности АсР яванского макака приведен в Таблице 2. Этот белок состоит из нескольких доменов: аминокислоты 1–20 соответствуют лидерной последовательности, которая может отщепляться во время процессинга белка в клетках млекопитающих; аминокислоты 21–367 соответствуют внеклеточному домену; аминокислоты 368–388 соответствуют трансмембранному домену; а аминокислоты 389–570 соответствуют внутриклеточному домену.

[0099] Пример аминокислотной последовательности IL-33 яванского макака приведен в Таблице 2.

Таблица 2

Аминокислотная последовательность ST2 яванского макака (SEQ ID NO:4)
MGLWILAILTILVYSTAAKFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKSSYIVDWYYSQTNKSIPTQE RNRVFASGQLLKFLPAEVADSGIYTCIVRSPTFNRTGYANVTIYKKQPCNVPDYLMYSTV SGSEKNSKIYCPIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSRYKAHKSFLVIDNVMDDAGDYTCCKF IHNENGANYSVTATRSFTVKDEQGFSRFPVIRAPAHNETKEVEIGENTNLTCACFGKGAQ FLATVQWQLNGNKITDFSEPRIQQEEGQNSQSFNGLACVNTVLRRIADVKEEDLLLRYDCLA LNLHGLRRHTIRLSRKNPIDHQSTYCI IAVCSVLLMLINILVIIILKTFWIEATLLWRDIAK PYKTRNDGKLYDAYVIYPRNYTSSADGASRVEYFVHQILPDVLENKCGYTLCIYGRDMLPG EDVVTAVETNIRKSRRHIFILTPQITHSEEFAYEQEVALHSALIQNDSKVILIEMEALSEL DMLQAEALQDSLRLHMEVQGTIKWREDHVANKRSLNSKFWKHVRYQMPVPSKMPRKASSLT SLAAQKQ
Аминокислотная последовательность АсР яванского макака (SEQ ID NO:5)
MTLWCVVSLYFYGILQSDASERCDDWGLDTMRQIQVFEDPARIKCPLFEHFLKFNYSTA HSAGLTLIYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDVLFWRPTLLNDTGNYTCLMRNTTYC SKVAFPLEVVQKDSFCNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDGYFPSSVKPTITWYMGCKY IQNFNNVIPEGMNLFLIAFISNNGNYTCVVTPENGRTFHLTRTLTVKVVGSPKNAVPPV IHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDIPIDVTINESISHS RTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGEVAKAATVKQKVPAPRYTVELACGFGA TVLLVVILIVVYHVYWLEMVLFYRAHFGTDEITLDGKEYDIYVSYARNAEEEEFVLLTLRG VLENEFGYKLCIFDRDSLPGGIVTDETLSTFIQKSRLLVVLSPNYVLQGTQALLELKAGLE NMASQGNINVILVQYKAVKETVKELKRAKTVLTVIKWKGEKSKYPQGRFWKQLQVAMPVK KSPRRSSSDEQGLSYSSLKNV
Аминокислотная последовательность IL-33 яванского макака (SEQ ID NO:6)
MKPKMKYSTNKNISTAKRKNTASKALCFKLGKSQQKAKEVCHVYFMKLRSGLMIKKEACYFR RETTKRPSLKTGGKHKGHLVLAACQQQSTVECFAGISGVPKYTRALHDSSITGISPITES

LASLSTYNDQSITFALEDESYEIYVEDLKDKKKDKVLLSYYESQHPSSESGDGVGKMLM
 VTLSPTKDFWLQANNKEHSVELHKCEKPLPDQAFFVLHNRSFNCVSFECKTDPGVFIGVKD
 NHLALIKVDHSENLGSENLFLKLSEI

ST2-антигенсвязывающие белки

[00100] В настоящем изобретении предложены антигенсвязывающие белки, которые специфически связывают ST2. Варианты осуществления антигенсвязывающих белков включают пептиды и/или полипептиды, которые специфически связывают ST2. Такие пептиды или полипептиды в некоторых случаях могут включать одну или более посттрансляционных модификаций. Варианты осуществления антигенсвязывающих белков включают антитела и их фрагменты согласно приведенным в данном описании определениям, которые специфически связывают ST2. Они включают антитела, которые специфически связывают человеческий ST2, включая те, которые подавляют связывание и/или активацию ST2 IL-33.

[00101] Антигенсвязывающие белки согласно изобретению специфически связываются с ST2. Употребляемое в данном описании выражение "специфически связывает" означает, что антигенсвязывающий белок среди других белков предпочтительно связывает ST2. В некоторых вариантах осуществления выражение "специфически связывает" означает, что ST2-антигенсвязывающий белок обладает более высокой аффинностью к ST2, чем к другим белкам. ST2-антигенсвязывающие белки, которые специфически связывают ST2, могут обладать аффинностью связывания к человеческому ST2, составляющей менее или равной 1×10^{-7} М, менее или равной 2×10^{-7} М, менее или равной 3×10^{-7} М, менее или равной 4×10^{-7} М, менее или равной 5×10^{-7} М, менее или равной 6×10^{-7} М, менее или равной 7×10^{-7} М, менее или равной 8×10^{-7} М, менее или равной 9×10^{-7} М, менее или равной 1×10^{-8} М, менее или равной 2×10^{-8} М, менее или равной 3×10^{-8} М, менее или равной 4×10^{-8} М, менее или равной 5×10^{-8} М, менее или равной 6×10^{-8} М, менее или равной 7×10^{-8} М, менее или равной 8×10^{-8} М, менее или равной 9×10^{-8} М, менее или равной 1×10^{-9} М, менее или равной 2×10^{-9} М,

менее или равной 3×10^{-9} М, менее или равной 4×10^{-9} М, менее или равной 5×10^{-9} М, менее или равной 6×10^{-9} М, менее или равной 7×10^{-9} М, менее или равной 8×10^{-9} М, менее или равной 9×10^{-9} М, менее или равной 1×10^{-10} М, менее или равной 2×10^{-10} М, менее или равной 3×10^{-10} М, менее или равной 4×10^{-10} М, менее или равной 5×10^{-10} М, менее или равной 6×10^{-10} М, менее или равной 7×10^{-10} М, менее или равной 8×10^{-10} М, менее или равной 9×10^{-10} М, менее или равной 1×10^{-11} М, менее или равной 2×10^{-11} М, менее или равной 3×10^{-11} М, менее или равной 4×10^{-11} М, менее или равной 5×10^{-11} М, менее или равной 6×10^{-11} М, менее или равной 7×10^{-11} М, менее или равной 8×10^{-11} М, менее или равной 9×10^{-11} М, менее или равной 1×10^{-12} М, менее или равной 2×10^{-12} М, менее или равной 3×10^{-12} М, менее или равной 4×10^{-12} М, менее или равной 5×10^{-12} М, менее или равной 6×10^{-12} М, менее или равной 7×10^{-12} М, менее или равной 8×10^{-12} М или менее или равной 9×10^{-12} М.

[00102] Способы определения аффинности связывания антигенсвязывающего белка хорошо известны в данной области техники. Общепринятые способы для определения аффинности включают поверхностный плазмонный резонанс (SPR) (Morton and Myszka "Kinetic analysis of macromolecular interactions using surface plasmon resonance biosensors" *Methods in Enzymology* (1998) 295, 268-294), био-слоевую интерферометрию, (Abdiche et al "Determining Kinetics and Affinities of Protein Interactions Using a Parallel Real-time Label-free Biosensor, the Octet" *Analytical Biochemistry* (2008) 377, 209-217), кинетический эксклюзионный анализ (KinExA) (Darling and Brault "Kinetic exclusion assay technology: characterization of molecular interactions" *Assay and Drug Dev Tech* (2004) 2, 647-657), изотермическую калориметрию (Pierce et al "Isothermal Titration Calorimetry of Protein-Protein Interactions" *Methods* (1999) 19, 213-221) и аналитическое ультрацентрифугирование (Lebowitz et al "Modern analytical ultracentrifugation in protein science: A tutorial review" *Protein Science* (2002), 11:2067-2079). Примеры таких способов приведены в Примере 3.

[00103] Стоит понимать, что при отсылке в данном описании к различным вариантам осуществления ST2-антигенсвязывающих белков, последние включают также ST2-связывающие фрагменты. ST2-связывающий фрагмент содержит любой из описанных в данном описании фрагментов или доменов антитела, который сохраняет способность специфически связываться с ST2. ST2-связывающий фрагмент может находиться в любой из описанных в данном описании каркасных структур.

[00104] В определенных терапевтических вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок подавляет связывание ST2 с IL-33 и/или подавляет одну или более биологических функций, ассоциированных со связыванием ST2 с IL-33, например, IL-33-опосредованную передачу сигнала. Считается, что такие антигенсвязывающие белки являются "нейтрализующими". В определенных вариантах осуществления нейтрализующий ST2-антигенсвязывающий белок специфически связывает ST2 и подавляет связывание ST2 с IL-33 на величину от 10% до 100%, например, на по меньшей мере примерно 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% или более. Например, можно исследовать нейтрализующую способность ST2-антигенсвязывающих белков путем определения способности антигенсвязывающего белка блокировать связывание IL-33 с ST2 или IL-33 с корцепторами ST2 и АсР, см., например, анализ блокирования IL-33, приведенный в Примере 6. Альтернативно, можно исследовать нейтрализующую способность ST2-антигенсвязывающих белков методом, в котором определяется эффект от присутствия ST2-антигенсвязывающего белка в анализе, определяющем IL-33-опосредованную биологическую функцию. Например, способность IL-33 индуцировать биологический ответ, такой как внутриклеточная передача сигнала или повышенная экспрессия медиаторов мРНК либо секреция медиаторов, таких как цитокины и хемокины из клеток, таких как эозинофилы, базофилы, Т-клетки, тучные клетки, НК-

клетки, NKT-клетки, нейтрофилы или природные хелперные клетки. Альтернативно, способность IL-33 стимулировать дифференциацию, пролиферацию, выживаемость, хемотаксис, изменение формы или адгезивных свойств клеток, таких как эозинофилы, базофилы, Т-клетки, тучные клетки, NK-клетки, NKT-клетки, нейтрофилы или природные хелперные клетки. Альтернативно, способность IL-33 индуцировать поверхностную экспрессию определенных маркеров клеточной активации, таких как CD11b, на клетках, таких как эозинофилы, базофилы, Т-клетки, тучные клетки, NK-клетки, NKT-клетки, нейтрофилы или природные хелперные клетки. Примеры таких способов приведены в Примерах 7-10.

[00105] Варианты осуществления антигенсвязывающих белков включают каркасные структуры согласно приведенным в данном описании определениям с одним или более определяющими комплементарность участками (CDR). Варианты осуществления дополнительно включают антигенсвязывающие белки, содержащие каркасную структуру с одним или более переменными доменами антитела, как тяжелой цепи, так и легкой цепи. Варианты осуществления включают антитела, которые содержат переменный домен легкой цепи, выбранный из группы, состоящей из переменного домена легкой цепи (LCv) Ab1, Ab2 LCv, Ab3 LCv, Ab4 LCv, Ab5 LCv, Ab6 LCv, Ab7 LCv, Ab8 LCv, Ab9 LCv, Ab10LCv, Ab11 LCv, Ab30 LCv, Ab32 LCv и Ab33 LCv (SEQ ID NO:95-105, 163-165, соответственно), и/или переменный домен тяжелой цепи, выбранный из группы, состоящей из переменного домена тяжелой цепи (HCv) Ab1, Ab2 HCv, Ab3 HCv, Ab4 HCv, Ab5 HCv, Ab6 HCv, Ab7 HCv, Ab8 HCv, Ab9 HCv, Ab10 HCv, Ab11HCv, Ab30HCv, Ab32HCv и Ab33HCv (SEQ ID NO:29-39, 145-147, соответственно), а также их фрагменты, производные, мутеины и варианты.

[00106] Примером легкой цепи, содержащей Ab1 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:84.

[00107] Примером легкой цепи, содержащей Ab2 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:85.

[00108] Примером легкой цепи, содержащей Ab3 LCv, является

легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:86.

[00109] Примером легкой цепи, содержащей Ab4 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:87.

[00110] Примером легкой цепи, содержащей Ab5 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:88.

[00111] Примером легкой цепи, содержащей Ab6 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:89.

[00112] Примером легкой цепи, содержащей Ab7 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:90.

[00113] Примером легкой цепи, содержащей Ab8 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:91.

[00114] Примером легкой цепи, содержащей Ab9 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:92.

[00115] Примером легкой цепи, содержащей Ab10 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:93.

[00116] Примером легкой цепи, содержащей Ab11 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:94.

[00117] Примером легкой цепи, содержащей Ab30 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:160.

[00118] Примером легкой цепи, содержащей Ab32 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:161.

[00119] Примером легкой цепи, содержащей Ab33 LCv, является легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:162.

[00120] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab1 HCv,

является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:18.

[00121] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab2 HCV, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19.

[00122] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab3 HCV, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:20.

[00123] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab4 HCV, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:21.

[00124] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab5 HCV, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:22.

[00125] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab6 HCV, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:23.

[00126] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab7 HCV, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:24.

[00127] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab8 HCV, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:25.

[00128] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab9 HCV, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:26.

[00129] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab10 HCV, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:27.

[00130] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab11 HCV, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:28.

[00131] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab30 HCV, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:142.

[00132] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab32 HCV,

является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:143.

[00133] Примером тяжелой цепи, содержащей Ab33 HCv, является тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:144.

[00134] Дополнительные примеры предусмотренных каркасных структур включают: фибронектин, неокарциностагин CBM4-2, липокалины, рецепторы Т-клеток, домен протеина-А (протеин Z), Im9, TPR белки, цинкпальцевые домены, pVIII, птичий панкреатический полипептид, GCN4, домен WW, домен Src-гомологии 3, домены PDZ, TEM1 бета-лактамазу, тиоредоксин, стафилококковую нуклеазу, PHD-пальцевые домены, CL-2, BPTI, APPI, HPSTI, экотин, LACI-D1, LDII, MTI-II, токсины скорпиона, пептид дефензин-А насекомых, EETI-II, Min-23, CBD, PBP, цитохром b-562, домены рецептора Ldl, гамма-кристаллин, убиквитин, трансферрин и/или лектин-подобные домены С-типа. Обзор каркасных структур, не принадлежащих к антителам, а также их применения в качестве терапевтических средств, приведен в Gebauer and Skerra, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 13:245-255 (2009) и Binz et al., *Nat. Biotech.*, 23(10):1257-1268 (2005), которые в полном объеме включены в данное описание посредством ссылки.

[00135] В аспекты осуществления данного изобретения включены антитела, содержащие следующие переменные домены: Ab1 LCv/Ab1 HCv (SEQ ID NO:95/SEQ ID NO:29), Ab2 LCv/Ab2 HCv (SEQ ID NO:96/SEQ ID NO:30), Ab3 LCv/Ab3 HCv (SEQ ID NO:97/SEQ ID NO:31), Ab4 LCv/Ab4 HCv (SEQ ID NO:98/SEQ ID NO:32), Ab5 LCv/Ab5 HCv (SEQ ID NO:99/SEQ ID NO:33), Ab6 LCv/Ab6 HCv (SEQ ID NO:100/SEQ ID NO:34), Ab7 LCv/Ab7 HCv (SEQ ID NO:101/SEQ ID NO:35), Ab8 LCv/Ab8 HCv (SEQ ID NO:102/SEQ ID NO:36), Ab9 LCv/Ab9 HCv (SEQ ID NO:103/SEQ ID NO:37), Ab10 LCv/Ab10 HCv (SEQ ID NO:104/SEQ ID NO:38), Ab11 LCv/Ab11 HCv (SEQ ID NO:105/SEQ ID NO:39), Ab30 LCv/Ab30 HCv (SEQ ID NO:163/SEQ ID NO:145), Ab32 LCv/Ab32 HCv (SEQ ID NO:164/SEQ ID NO:146), Ab33 LCv/Ab33 HCv (SEQ ID NO:165/SEQ ID NO:147) и их комбинации, а также их фрагменты, производные, мутеины и варианты.

[00136] Примеры антител согласно изобретению включают Ab1

(SEQ ID NO:84/SEQ ID NO:18), Ab2 (SEQ ID NO:85/SEQ ID NO:19), Ab3 (SEQ ID NO:86/SEQ ID NO:20), Ab4 (SEQ ID NO:87/SEQ ID NO:21), Ab5 (SEQ ID NO:88/SEQ ID NO:22), Ab6 (SEQ ID NO:89/SEQ ID NO:23), Ab7 (SEQ ID NO:90/SEQ ID NO:24), Ab8 (SEQ ID NO:91/SEQ ID NO:25), Ab9 (SEQ ID NO:92/SEQ ID NO:26), Ab10 (SEQ ID NO:93/SEQ ID NO:27), Ab11 (SEQ ID NO:94/SEQ ID NO:28), Ab30 (SEQ ID NO:160/SEQ ID NO:142), Ab32 (SEQ ID NO:161/SEQ ID NO:143) и Ab33 (SEQ ID NO:162/SEQ ID NO:144).

[00137] Как правило, каждый переменный домен легкой или тяжелой цепи антитела содержит три CDR. Переменный домен тяжелой цепи содержит CDR1 тяжелой цепи (HCDR1), CDR2 тяжелой цепи (HCDR2) и CDR3 тяжелой цепи (HCDR3). Переменный домен легкой цепи содержит CDR1 легкой цепи (LCDR1), CDR2 легкой цепи (LCDR2) и CDR3 легкой цепи (LCDR3). В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит один или более CDR, находящихся в пределах описанных в данном описании предпочтительных переменных доменов.

[00138] Примеры CDR включают, но не ограничиваются этим:

[00139] CDR, принадлежащие Ab1 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:106), LCDR2 (SEQ ID NO:117) и LCDR3 (SEQ ID NO:128);

[00140] CDR, принадлежащие Ab2 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:107), LCDR2 (SEQ ID NO:118) и LCDR3 (SEQ ID NO:129);

[00141] CDR, принадлежащие Ab3 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:108), LCDR2 (SEQ ID NO:119) и LCDR3 (SEQ ID NO:130);

[00142] CDR, принадлежащие Ab4 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:109), LCDR2 (SEQ ID NO:120) и LCDR3 (SEQ ID NO:131);

[00143] CDR, принадлежащие Ab5 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:110), LCDR2 (SEQ ID NO:121) и LCDR3 (SEQ ID NO:132);

[00144] CDR, принадлежащие Ab6 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:111), LCDR2 (SEQ ID NO:122) и LCDR3 (SEQ ID NO:133);

[00145] CDR, принадлежащие Ab7 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:112), LCDR2 (SEQ ID NO:123) и LCDR3 (SEQ ID NO:134);

[00146] CDR, принадлежащие Ab8 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:113), LCDR2 (SEQ ID NO:124) и LCDR3 (SEQ ID NO:135);

[00147] CDR, принадлежащие Ab9 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:114), LCDR2 (SEQ ID NO:125) и LCDR3 (SEQ ID NO:136);

[00148] CDR, принадлежащие Ab10 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:115), LCDR2 (SEQ ID NO:126) и LCDR3 (SEQ ID NO:137);

[00149] CDR, принадлежащие Ab11 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:116), LCDR2 (SEQ ID NO:127) и LCDR3 (SEQ ID NO:138);

[00150] CDR, принадлежащие Ab30 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:166), LCDR2 (SEQ ID NO:169) и LCDR3 (SEQ ID NO:172);

[00151] CDR, принадлежащие Ab32 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:167), LCDR2 (SEQ ID NO:170) и LCDR3 (SEQ ID NO:173);

[00152] CDR, принадлежащие Ab33 LCv: LCDR1 (SEQ ID NO:168), LCDR2 (SEQ ID NO:171) и LCDR3 (SEQ ID NO:174);

[00153] CDR, принадлежащие Ab1 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:40), HCDR2 (SEQ ID NO:51) и HCDR3 (SEQ ID NO:62);

[00154] CDR, принадлежащие Ab2 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:41), HCDR2 (SEQ ID NO:52) и HCDR3 (SEQ ID NO:63);

[00155] CDR, принадлежащие Ab3 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:42), HCDR2 (SEQ ID NO:53) и HCDR3 (SEQ ID NO:64);

[00156] CDR, принадлежащие Ab4 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:43), HCDR2 (SEQ ID NO:54) и HCDR3 (SEQ ID NO:65);

[00157] CDR, принадлежащие Ab5 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:44), HCDR2 (SEQ ID NO:55) и HCDR3 (SEQ ID NO:66);

[00158] CDR, принадлежащие Ab6 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:45), HCDR2 (SEQ ID NO:56) и HCDR3 (SEQ ID NO:67);

[00159] CDR, принадлежащие Ab7 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:46), HCDR2 (SEQ ID NO:57) и HCDR3 (SEQ ID NO:68);

[00160] CDR, принадлежащие Ab8 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:47), HCDR2 (SEQ ID NO:58) и HCDR3 (SEQ ID NO:69);

[00161] CDR, принадлежащие Ab9 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:48), HCDR2 (SEQ ID NO:59) и HCDR3 (SEQ ID NO:70);

[00162] CDR, принадлежащие Ab10 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:49), HCDR2 (SEQ ID NO:60) и HCDR3 (SEQ ID NO:71);

[00163] CDR, принадлежащие Ab11 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:50), HCDR2 (SEQ ID NO:61) и HCDR3 (SEQ ID NO:72);

[00164] CDR, принадлежащие Ab30 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:148), HCDR2 (SEQ ID NO:151) и HCDR3 (SEQ ID NO:154);

[00165] CDR, принадлежащие Ab32 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:149), HCDR2 (SEQ ID NO:152) и HCDR3 (SEQ ID NO:155); и

[00166] CDR, принадлежащие Ab33 HCv: HCDR1 (SEQ ID NO:150), HCDR2 (SEQ ID NO:153) и HCDR3 (SEQ ID NO:156).

[00167] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит: А) полипептид, например, легкую цепь, которая содержит LCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 166, 167 и 168; LCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 169, 170 и 171; и/или LCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 172, 173 и 174; и/или В) полипептид, например, тяжелую цепь, которая содержит HCDR1, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 148, 149 и 150; HCDR2, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 151, 152 и 153; и/или HCDR3, имеющий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO:62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 154, 155 и 156.

[00168] В дополнительных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит: А) аминокислотную последовательность легкой цепи, которая содержит LCDR1, LCDR2 и LCDR3, принадлежащие любому из Ab1 LCv, Ab2 LCv, Ab3 LCv, Ab4 LCv, Ab5 LCv, Ab6 LCv, Ab7 LCv, Ab8 LCv, Ab9 LCv, Ab10 LCv, Ab11 LCv, Ab30 LCv, Ab32 LCv и Ab33 LCv, и В) аминокислотную последовательность тяжелой цепи, которая содержит HCDR1, HCDR2 и HCDR3, принадлежащие любому из Ab1 HCv, Ab2 HCv, Ab3 HCv, Ab4 HCv, Ab5 HCv, Ab6 HCv, Ab7 HCv, Ab8 HCv, Ab9 HCv, Ab10 HCv, Ab11 HCv, Ab30 HCv, Ab32 HCv и Ab33 HCv.

[00169] В определенных вариантах осуществления CDR содержат не более одной, не более двух, не более трех, не более четырех, не более пяти или не более шести аминокислотных вставок, делеций или замен относительно приведенного в данном описании в качестве примера CDR.

[00170] В аспекты осуществления данного изобретения включены антитела, содержащие переменный домен легкой цепи, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO:95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 163, 164 и 165. В аспекты осуществления данного изобретения включены антитела, содержащие переменный домен тяжелой цепи, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO:29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 145, 146 и 147. В дополнительные аспекты осуществления данного изобретения включены антитела, содержащие А) переменный домен легкой цепи, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO:95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 163, 164 и 165, и В) переменный домен тяжелой цепи, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO:29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 145, 146 и 147.

[00171] Антитела согласно изобретению могут содержать любую известную в данной области техники константную область. Константной областью легкой цепи может являться, например, константная область легкой цепи каппа- или ламбда-типа, например, человеческая константная область легкой цепи каппа- или ламбда-типа. Константной областью тяжелой цепи может являться, например, константная область тяжелой цепи альфа-, дельта-, эpsilon-, гамма- или мю-типа, например, человеческая константная область тяжелой цепи альфа-, дельта-, эpsilon-, гамма- или мю-типа. В одном варианте осуществления константной областью легкой или тяжелой цепи является фрагмент, производное, вариант или мутант константной области природного происхождения.

[00172] В аспекты осуществления данного изобретения включены антитела, содержащие переменный участок легкой цепи, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO:95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 163, 164 и 165, содержащий не более одной, не более двух, не более трех, не более четырех, не более пяти, не более шести, не более семи, не более восьми, не более девяти или не более десяти аминокислотных вставок, делеций или замен. В аспекты осуществления данного изобретения включены антитела, содержащие переменный участок тяжелой

цепи, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO:29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 145, 146 и 147, содержащий не более одной, не более двух, не более трех, не более четырех, не более пяти, не более шести, не более семи, не более восьми, не более девяти или не более десяти аминокислотных вставок, делеций или замен. В дополнительные аспекты осуществления данного изобретения включены антители, содержащие А) переменный участок легкой цепи, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO:95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 163, 164 и 165, содержащий не более одной, не более двух, не более трех, не более четырех, не более пяти, не более шести, не более семи, не более восьми, не более девяти или не более десяти аминокислотных вставок, делеций или замен, и В) переменный участок тяжелой цепи, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO:29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 145, 146 и 147, содержащий не более одной, не более двух, не более трех, не более четырех, не более пяти, не более шести, не более семи, не более восьми, не более девяти или не более десяти аминокислотных вставок, делеций или замен.

[00173] В одном из вариантов реализации антигенсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной аминокислотной последовательности переменного участка легкой цепи, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 163, 164 и 165. В другом варианте осуществления антигенсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на

85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной аминокислотной последовательности переменного участка тяжелой цепи, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 145, 146 и 147. В дополнительном варианте осуществления антигенсвязывающий белок содержит А) аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной аминокислотной последовательности переменного участка легкой цепи, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 163, 164 и 165, и В) аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной аминокислотной последовательности переменного участка тяжелой цепи, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO:29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 145, 146 и 147.

[00174] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит CDR3 легкой цепи и/или

тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы последовательностей, приведенных в SEQ ID NO:128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 172, 173, 174, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 154, 155 и 156. В определенных вариантах осуществления данная аминокислотная последовательность содержит не более одной, не более двух, не более трех, не более четырех, не более пяти или не более шести аминокислотных вставок, делеций или замен относительно примерной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 172, 173, 174, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 154, 155 и 156. Таким образом, Варианты осуществления данного изобретения включают антигенсвязывающий белок, содержащий аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной аминокислотной последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в SEQ ID NO:128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 172, 173, 174, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 154, 155 и 156.

[00175] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит CDR2 легкой цепи и/или тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы последовательностей, приведенных в SEQ ID NO:117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 169, 170, 171, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 151, 152 и 153. В определенных вариантах осуществления данная аминокислотная последовательность содержит

не более одной, не более двух, не более трех, не более четырех, не более пяти или не более шести аминокислотных вставок, делеций или замен относительно примерной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 169, 170, 171, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 151, 152 и 153. Таким образом, Варианты осуществления данного изобретения включают антигенсвязывающий белок, содержащий аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной аминокислотной последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в SEQ ID NO:117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 169, 170, 171, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 151, 152 и 153.

[00176] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит CDR1 легкой цепи и/или тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы последовательностей, приведенных в SEQ ID NO:106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 166, 167, 168, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 148, 149 и 150. В определенных вариантах осуществления данная аминокислотная последовательность содержит не более одной, не более двух, не более трех, не более четырех, не более пяти или не более шести аминокислотных вставок, делеций или замен относительно примерной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 166, 167, 168, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 148, 149 и 150. Таким образом, Варианты осуществления данного изобретения включают антигенсвязывающий

белок, содержащий аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 81%, по меньшей мере на 82%, по меньшей мере на 83%, по меньшей мере на 84%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентичной аминокислотной последовательности, выбранной из группы последовательностей, приведенных в SEQ ID NO:106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 166, 167, 168, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 148, 149 и 150.

[00177] Антигенсвязывающие белки согласно изобретению содержат каркасные структуры традиционных антител, включая человеческие и моноклональные антитела, биспецифические антитела, диатела, минитела, доменные антитела, синтетические антитела (иногда называемые "миметиками антител"), химерные антитела, слитые антитела (иногда называемые "конъюгатами антител") и фрагменты каждого из перечисленных элементов. Вышеописанные CDR, включая различные комбинации CDR, могут быть привиты в любую из следующих каркасных структур.

[00178] Употребляемый в данном описании термин "антитело" относится к различным формам мономерных или мультимерных белков, содержащих одну или более полипептидных цепей, которые специфически связываются с антигеном согласно приведенным в тексте описаниям. В определенных вариантах осуществления антитела получают при помощи рекомбинатных ДНК-технологий. В дополнительных вариантах осуществления антитела получают при помощи ферментативного или химического расщепления антител природного происхождения. В другом аспекте осуществления антитело выбрано из группы, состоящей из: а) человеческого антитела; b) гуманизированного антитела; c) химерного антитела; d) моноклонального антитела; e) поликлонального антитела; f) рекомбинантного антитела; g) антигенсвязывающего фрагмента; h) одноцепочечного антитела; i) диатела; j) триатела, k)

тетратела, l) фрагмента Fab; m) фрагмента $F(ab')_2$, n) антитела IgA, o) антитела IgD, p) антитела IgE, q) антитела IgG1, r) антитела IgG2, s) антитела IgG3, t) антитела IgG4 и u) антитела IgM.

[00179] Вариабельный участок или домен содержит по меньшей мере три CDR тяжелой или легкой цепей, заключенные в пределах каркасной области (каркасные области обозначают как FR1, FR2, FR3 и FR4). Kabat et al., 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD. Структурные единицы традиционного антитела, как правило, содержат тетрамер. Каждый тетрамер обычно состоит из двух идентичных пар полипептидных цепей, при этом каждая пара содержит одну "легкую" и одну "тяжелую" цепь. Амино-терминальная часть каждой цепи содержит вариабельный участок длиной от примерно 100 до 110 или более аминокислот, отвечающий главным образом за распознавание антигена. Карбокси-терминальная часть каждой цепи определяет константную область, отвечающую главным образом за эффекторную функцию. Человеческие легкие цепи классифицируют как каппа или лямбда легкие цепи. Тяжелые цепи классифицируют как мю, дельта, гамма, альфа или эпсилон, и именно они определяют изотип антитела, соответственно, как IgM, IgD, IgG, IgA и IgE. IgG имеет несколько подклассов, включая, но не ограничиваясь этим, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. IgM имеет подклассы, включая, но не ограничиваясь этим, IgM1 и IgM2. Варианты осуществления изобретения включают все подобные классы и подклассы антител, которые содержат вариабельный домен или CDR антигенсвязывающих белков, как описано в данном описании.

[00180] Некоторые антитела природного происхождения, такие как обнаруживаемые у верблюдов и лам, представляют собой димеры, состоящие из двух тяжелых цепей и не содержащие легких цепей. В данное изобретение включены димерные антитела, состоящие из двух тяжелых цепей, или их фрагменты, которые могут связываться с ST2.

[00181] Как правило, вариабельные участки тяжелой и легкой цепей обладают одинаковой общей структурой консервативных

каркасных областей (FR), соединенных тремя гипервариабельными участками, т.е., определяющими комплементарность участками, или CDR. CDR главным образом отвечают за распознавание и связывание антигена. CDR из двух цепей каждой пары выравниваются посредством каркасных областей, что обеспечивает возможность связывания со специфическим эпитопом. От N-конца до С-конца и легкая и тяжелая цепи содержат домены FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4. Отнесение аминокислот к каждому из доменов проводят согласно определениям Kabat.

[00182] CDR определяют основные поверхностные точки контакта для связывания антигена. CDR3 легкой цепи и, в особенности, CDR3 тяжелой цепи определяют наиболее важные детерминанты для связывания антигена в пределах переменных участков легкой и тяжелой цепей. Для некоторых антител, CDR3 тяжелой цепи может определять основную область контакта между антигеном и антителом. Схемы *in vitro* отбора, в которых варьируется только CDR3, можно использовать для изменения связывающих свойств антитела или для определения, какие остатки являются важными для связывания антигена.

[00183] Как правило, антитела природного происхождения содержат сигнальную последовательность, которая способствует участию антитела в клеточном пути, связанном с секрецией белка, и которая обычно не присутствует в зрелом антителе. Полинуклеотид, кодирующий антитело согласно изобретению может кодировать сигнальную последовательность природного происхождения либо гетерологичную сигнальную последовательность, как описано ниже.

[00184] В одном варианте осуществления антигенсвязывающий белок представляет собой антитело, содержащее от одного до шести CDR, приведенных в качестве примеров, как описано в данном описании. Антитела согласно изобретению могут принадлежать любому типу, включая антитела IgM, IgG (включая IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgD, IgA или IgE. В конкретном варианте осуществления антигенсвязывающий белок представляет собой антитело типа IgG, например, антитело IgG1.

[00185] В некоторых вариантах осуществления, например,

когда антигенсвязывающий белок представляет собой антитело с полноразмерными тяжелой и легкой цепями, все CDR принадлежат одному виду, например, человеку. Альтернативно, например в вариантах осуществления, в которых антигенсвязывающий белок содержит менее шести CDR из приведенных выше последовательностей, дополнительные CDR могут принадлежать как к другим видам, так и являться человеческими CDR, отличными от тех, которые приведены в примерных последовательностях. Например, участки HCDR3 и LCDR3 из определенных в данном описании соответствующих последовательностей можно использовать с HCDR1, HCDR2, LCDR1 и LCDR2, необязательно выбранными из принадлежащих другим видам или различных человеческих последовательностей антител либо их комбинаций. Например, CDR согласно изобретению можно замещать участки CDR имеющих коммерческую ценность химерных или гуманизированных антител.

[00186] В конкретных вариантах осуществления применяют каркасные компоненты антигенсвязывающих белков, которые являются компонентами человеческого происхождения. При этом в некоторых вариантах осуществления каркасные компоненты могут представлять собой смесь компонентов от разных видов. В таком случае, если антигенсвязывающий белок представляет собой антитело, такое антитело может являться химерным антителом и/или гуманизированным антителом. В общем случае, как "химерные антитела", так и "гуманизированные антитела" относятся к антителам, в которых объединены участки, принадлежащие более чем одному виду. Например, "химерные антитела" обычно содержат переменный участок(-и), принадлежащий мышам (или, в некоторых случаях, крысе), и константную область(-и), принадлежащую человеку.

[00187] "Гуманизированные антитела", как правило, относятся к антителам нечеловеческого происхождения, в которых каркасные области переменного домена были заменены последовательностями из антител человека. В общем случае, в гуманизированном антителе, все антитело за исключением одного или более CDR кодируется полинуклеотидом человеческого происхождения либо является идентичным такому антителу за

исключением одного или более CDR. CDR, некоторые или все из которых кодируются нуклеиновыми кислотами, принадлежащими организму нечеловеческого происхождения, прививают в каркас складчатого бета-слоя переменного участка человеческого антитела, чтобы получить антитело, специфичность которого определяется привитыми CDR. Получение подобных антител описано, например, в WO 92/11018, Jones 1986, *Nature* 321:522-525, Verhoeven et al., 1988, *Science* 239:1534-1536. Также гуманизированные антитела можно получить, используя мышей с и сконструированной методами генной инженерии иммунной системой. Roque et al., 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654. В описанных в данном описании примерных вариантах осуществления идентифицированные CDR являются человеческими, и следовательно, в данном контексте как гуманизированные, так и химерные антитела содержат некоторое количество CDR нечеловеческого происхождения; например, могут быть получены гуманизированные антитела, содержащие участки HCDR3 и LCDR3, при этом один или более других участков CDR принадлежат другому виду.

[00188] В одном варианте осуществления ST2-антигенсвязывающий белок представляет собой мультиспецифическое антитело и, в частности, биспецифическое антитело, иногда также называемое "диателом". Это такие антитела, которые связываются с двумя или более различными антигенами или различными эпитопами на одном антигене. В определенных вариантах осуществления биспецифическое антитело связывает ST2 и антиген на человеческой эффекторной клетке (например, Т-клетке). Такие антитела полезны при нацеливании на ответ эффекторных клеток против экспрессирующих ST2 клеток, таких как экспрессирующие ST2 опухолевые клетки. В предпочтительных вариантах осуществления человеческим антигеном эффекторной клетки является CD3. Патент США № 7,235,641. Способы получения специфических антител известны в данной области техники. Один из таких способов включает конструирование Fc-фрагмента тяжелых цепей таким образом, чтобы создать "выпуклости" и "впадины", которые способствуют образованию гетеродимеров из тяжелых цепей при их совместной экспрессии в клетке. США 7,695,963. Другой

способ также включает конструирование Fc-фрагмента тяжелой цепи, но при этом использует электростатическое взаимодействие для стимуляции образования гетеродимеров, в то же время подавляя образование гомодимеров тяжелых цепей при их совместной экспрессии в клетке. WO 09/089,004, которая в полном объеме включена в данное описание посредством ссылки.

[00189] В одном варианте осуществления ST2-антигенсвязывающий белок представляет собой минитело. Минитела являются минимизированными антитело-подобными белками, содержащими scFv, соединенный с доменом CH3. Hu et al., 1996, *Cancer Res.* 56:3055-3061.

[00190] В одном варианте осуществления ST2-антигенсвязывающий белок представляет собой доменное антитело; см., например, патент США № 6,248,516. Доменные антитела (dAb) представляют собой функциональные связывающие домены антител, соответствующие вариabельным участкам тяжелой (VH) или легкой (VL) цепей человеческих антител. dAb имеют молекулярную массу приблизительно 13 кДа либо менее одной десятой от массы полноразмерного антитела. dAb хорошо экспрессируются в большом количестве организмов-хозяев, включая клеточные системы бактерий, дрожжей и млекопитающих. Вдобавок, dAb являются высокостабильными и сохраняют активность даже в жестких условиях, таких как при лиофилизации или тепловой денатурации. См., например, патенты США 6,291,158; 6,582,915; 6,593,081; 6,172,197; заявку на патент США № 2004/0110941; Европейский патент 0368684; патент США 6,696,245, WO04/058821, WO04/003019 и WO03/002609.

[00191] В одном варианте осуществления ST2-антигенсвязывающий белок представляет собой фрагмент антитела, который является фрагментом любого из приведенных в данном описании антител, который сохраняет специфичность связывания с ST2. В разных вариантах осуществления антигенсвязывающие белки содержат без ограничений фрагменты F(ab), F(ab'), F(ab')₂, Fv или одноцепочечного Fv. Как минимум, антитело согласно данному описанию содержит полипептид, который может специфически связываться с ST2, содержащий полностью либо частично

вариабельный домен легкой или тяжелой цепи, например, один или более CDR.

[00192] Дополнительные примеры фрагментов ST2-связывающего антитела включают, но не ограничиваясь этим, (i) фрагмент Fab, состоящий из доменов VL, VH, CL и CH1, (ii) фрагмент Fd, состоящий из доменов VH и CH1, (iii) фрагмент Fv, состоящий из VL и VH доменов одного антитела; (iv) фрагмент dAb (Ward *et al.*, 1989, *Nature* 341:544-546), который состоит из одиночного вариабельного домена, (v) выделенные участки CDR, (vi) фрагмент F(ab')₂ - бивалентный фрагмент, содержащий два связанных фрагмента Fab, (vii) одноцепочечные молекулы Fv (scFv), в которых домен VH и домен VL соединены пептидным линкером, который делает возможной ассоциацию двух доменов для образования антигенсвязывающего участка (Bird *et al.*, 1988, *Science* 242:423-426, Huston *et al.*, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:5879-5883), (viii) биспецифические одноцепочечные димеры Fv (PCT/US92/09965) и (ix) "диатела" или "триатела" - мультивалентные или мультиспецифические фрагменты, сконструированные путем генного слияния (Tomlinson *et al.*, 2000, *Methods Enzymol.* 326:461-479; WO94/13804; Holliger *et al.*, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:6444-6448). Фрагменты антител можно модифицировать. Например, молекулы можно стабилизировать путем внедрения дисульфидных мостиков, соединяющих домены VH и VL (Reiter *et al.*, 1996, *Nature Biotech.* 14:1239-1245). Аспекты данного изобретения включают те варианты осуществления, в которых компоненты этих фрагментов, не принадлежащие CDR, являются человеческими последовательностями.

[00193] В одном варианте осуществления ST2-антигенсвязывающий белок представляет собой полностью человеческое антитело. В этом варианте осуществления, как указано выше, отдельные структуры содержат полноразмерные тяжелую и легкую цепи, содержащие CDR участки. В дополнительных вариантах осуществления используют один или более CDR согласно изобретению совместно с другими CDR, каркасными областями, J и D участками, константными областями и т.д., полученными из

других человеческих антител. Например, CDR согласно изобретению можно замещать CDR любого количества человеческих антител, в частности, имеющих коммерческую ценность антител.

[00194] Одноцепочечные антитела могут образовываться при соединении фрагментов вариабельного домена (Fv участок) тяжелой и легкой цепи при помощи аминокислотного мостика (короткого пептидного линкера), что приводит к образованию одиночной полипептидной цепи. Такие одноцепочечные Fv (scFv) получали при помощи внесения ДНК, кодирующей пептидный линкер, между ДНК, кодирующими два полипептида вариабельного домена (V_L и V_H). Полученные в результате полипептиды могут конъюгировать сами с собой, образуя антигенсвязывающие момеры, либо они могут образовывать мультимеры (например, димеры, тримеры или тетрамеры) в зависимости от длины гибкого линкера между двумя вариабельными доменами (Kortt *et al.*, 1997, *Prot. Eng.* 10:423; Kortt *et al.*, 2001, *Biomol. Eng.* 18:95-108). Комбинируя различные полипептиды, содержащие V_L и V_H , можно получать мультимерные scFvs, которые связываются с разными эпитопами (Kriangkum *et al.*, 2001, *Biomol. Eng.* 18:31-40). Методы, разработанные для получения одноцепочечных антител, включают те, что описаны в патенте США № 4,946,778; Bird, 1988, *Science* 242:423; Huston *et al.*, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879; Ward *et al.*, 1989, *Nature* 334:544, de Graaf *et al.*, 2002, *Methods Mol Biol.* 178:379-87. В настоящее изобретение включены одноцепочечные антитела, полученные из предложенных в данном описании антител (включая, но не ограничиваясь scFv, содержащими такие комбинации вариабельных доменов: Ab1 LCv/Ab1 HCv (SEQ ID NO:95/SEQ ID NO:29), Ab2 LCv/Ab2 HCv (SEQ ID NO:96/SEQ ID NO:30), Ab3 LCv/Ab3 HCv (SEQ ID NO:97/SEQ ID NO:31), Ab4 LCv/Ab4 HCv (SEQ ID NO:98/SEQ ID NO:32), Ab5 LCv/Ab5 HCv (SEQ ID NO:99/SEQ ID NO:33), Ab6 LCv/Ab6 HCv (SEQ ID NO:100/SEQ ID NO:34), Ab7 LCv/Ab7 HCv (SEQ ID NO:101/SEQ ID NO:35), Ab8 LCv/Ab8 HCv (SEQ ID NO:102/SEQ ID NO:36), Ab9 LCv/Ab9 HCv (SEQ ID NO:103/SEQ ID NO:37), Ab10 LCv/Ab10 HCv (SEQ ID NO:104/SEQ ID NO:38), и Ab11 LCv/Ab11 HCv (SEQ ID NO:105/SEQ ID NO:39), Ab30 LCv/Ab30 HCv (SEQ ID NO:163/SEQ ID

NO:145), Ab32 LCv/Ab32 HCv (SEQ ID NO:164/SEQ ID NO:146), Ab33 LCv/Ab33 HCv (SEQ ID NO:165/SEQ ID NO:147)), и их комбинации.

[00195] В одном варианте осуществления ST2-антигенсвязывающий белок представляет собой слитый белок антитела (иногда называемый в данном описании "конъюгатом антитела"). Партнер по конъюгации может иметь белковую или небелковую природу; в общем случае последний получают, используя функциональные группы на антигенсвязывающем белке и на партнере по конъюгации. В определенных вариантах осуществления антитело конъюгируют с химическим (лекарственным) веществом небелковой природы для получения конъюгата из антитела и лекарственного средства.

[00196] В одном варианте осуществления ST2-антигенсвязывающий белок представляет собой аналог антитела, иногда называемый "синтетическим антителом". Например, во многих работах используют как альтернативные белковые каркасы, так и искусственные каркасы с привитыми CDR. Такие каркасы включают, но не ограничиваются этим, мутации, введенные для стабилизации трехмерной структуры связывающего белка, а также полностью синтетические каркасы, состоящие, к примеру, из биосовместимых полимеров. См., например, Korndorfer et al., 2003, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, Volume 53, Issue 1:121-129. Roque et al., 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654. В дополнение, можно применять пептидные миметики антител ("РАМ"), а также работу на основе миметиков антител, в которой компоненты фибронектина используются в качестве каркасов.

[00197] При употреблении в данном описании под термином "белок" подразумевается по меньшей мере две ковалентно связанных аминокислоты, а сам термин включает белки, полипептиды, олигопептиды и пептиды. В некоторых вариантах осуществления две или более ковалентно связанных аминокислоты соединены при помощи пептидной связи. Белок может состоять из аминокислот природного происхождения и пептидных связей, например, в случае, когда белок получен рекомбинантным методом с использованием экспрессионных систем и клеток-хозяев, как

описано ниже. В другом варианте белок может содержать синтетические аминокислоты (например, гомофенилаланин, цитруллин, орнитин и норлейцин) или пептидомиметические структуры, т.е., "пептидные или белковые аналоги", такие как пептоиды (см. Simon et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:9367, включенную в данное описание посредством ссылки), которые могут быть устойчивыми к протеазам или в других физиологических условиях и/или в условиях хранения. Такие синтетические аминокислоты можно вносить, в частности, когда антигенсвязывающий белок синтезируют *in vitro* при помощи стандартных методов, хорошо известных в данной области техники. Вдобавок, можно использовать любую комбинацию из пептидомиметика и синтетических и природных остатков/структур. Термин "аминокислота" также включает иминокислотные остатки, такие как пролин и гидроксипролин. "R-группа" или "боковая цепь" аминокислоты может иметь как (L)-, так и (S)-конфигурацию. В конкретном варианте осуществления аминокислоты находятся в (L)- или (S)-конфигурации.

[00198] В отдельных аспектах реализации в изобретении предложены рекомбинантные антигенсвязывающие белки, которые связывают ST2 и, в некоторых вариантах осуществления, рекомбинантный человеческий ST2 или его часть. В этом контексте "рекомбинантным белком" называется белок, полученный при помощи рекомбинантных технологий с использованием любых известных в данной области техники способов и методов, т.е., посредством экспрессии рекомбинантной нуклеиновой кислоты, как описано в данном описании. Способы и методы получения рекомбинантных белков хорошо известны в данной области техники. Варианты осуществления изобретения включают рекомбинантные антигенсвязывающие белки, которые связывают ST2 дикого типа и его варианты.

[00199] "Состоящий по существу из" означает, что аминокислотная последовательность может изменяться в пределах примерно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15% относительно перечисленных как SEQ ID NO: последовательностей и при этом сохраняет биологическую активность, как описано в

данном описании.

[00200] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающие белки согласно изобретению являются выделенными белками или в значительной степени очищенными белками. "Выделенный" белок не содержит по меньшей мере некоторые вещества, с которыми он обычно связан в своем природном состоянии, например, в заданном образце он составляет по меньшей мере 5% или по меньшей мере 50% по массе от общего белка. Понятно, что выделенный белок может составлять от 5 до 99,9% по массе от общего содержания белка в зависимости от обстоятельств. Например, белок может быть получен при значительно более высокой концентрации путем использования индуцибельного промотора или промотора высокого уровня экспрессии, при этом получают повышенный уровень концентрации белка. Данное определение включает выработку антигенсвязывающего белка в большом количестве организмов и/или клеток-хозяев, которые известны в данной области техники.

[00201] В случае аминокислотных последовательностей идентичность и/или схожесть последовательностей определяют, используя стандартные известные в данной области методы, включая, но не ограничиваясь этим, алгоритм локальной идентичности последовательностей Смита и Ватермана, 1981, *Adv. Appl. Math.* 2:482, алгоритм выравнивания последовательностей Нидлмана и Вунша, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443, метод поиска сходства Пирсона и Липмана, 1988, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2444, компьютеризированные реализации этих алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA и TFASTA, входящие в Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.), программу для выравнивания последовательностей Best Fit, описанную Devereux et al., 1984, *Nucl. Acid Res.* 12:387-395, предпочтительно используя настройки по умолчанию либо путем подбора. Предпочтительно, процент идентичности рассчитывается при помощи FastDB на основании следующих параметров: штраф за нарушение комплементарности - 1; штраф за наличие гэпа - 1; штраф за размер гэпа - 0,33; и штраф за соединение - 30, "Current Methods in Sequence Comparison and Analysis,"

Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

[00202] Примером подходящего алгоритма является PILEUP. PILEUP позволяет проводить множественное выравнивание последовательностей из группы родственных последовательностей, используя прогрессивное попарное выравнивание. Также в нем есть функция построения дерева, показывающего кластерные взаимосвязи, используемые для создания выравнивания. В PILEUP используется упрощенный метод прогрессивного выравнивания Фенга и Дулиттла, 1987, *J. Mol. Evol.* 35:351-360; данный метод сходен с тем, который был описан Хиггинсом и Шарпом, 1989, *CABIOS* 5:151-153. Подходящие параметры PILEUP включают вес гэта по умолчанию в 3,00, вес длины гэта по умолчанию в 0,10 и взвешенные конечные гэпы.

[00203] Другим примером подходящего алгоритма является алгоритм BLAST, описанный в: Altschul et al., 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410; Altschul et al., 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402; и Karin et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5873-5787. В особенности подходящей программой BLAST является программа WU-BLAST-2, которая была создана Altschul et al., 1996, *Methods in Enzymology* 266:460-480. WU-BLAST-2 использует несколько поисковых параметров, значения большинства из которых установлены по умолчанию. Для подгоночных параметров устанавливают следующие значения: интервал перекрывания=1, доля перекрываний=0,125, предельные размеры участка (T)=II. Параметры HSP S и HSP S2 являются динамическими величинами и устанавливаются программой в зависимости от содержания конкретной последовательности и содержания конкретной базы данных, относительно которых проводится поиск представляющей интерес последовательности; при этом значения могут быть подобраны так, чтобы увеличить чувствительность.

[00204] Дополнительным подходящим алгоритмом является BLAST с гэпами, описанный Altschul et al., 1993, *Nucl. Acids Res.* 25:3389-3402. BLAST с гэпами использует показатели замен BLOSUM-62; пороговый параметр T, установленный на 9; метод двух совпадений для запуска продлений без гэпов, затраты при длине

гэпа k , составляющие $10+k$; величину X_u , установленную на 16, и величину X_g , установленную на 40 на этапе поиска по базе данных и на 67 на выходном этапе алгоритмов. Выравнивание с гэпами запускается при показателе, который соответствует приблизительно 22 бит.

[00205] В общем случае аминокислотная гомология, сходство или идентичность между отдельными вариантами CDR и приведенными в данном описании последовательностями составляет по меньшей мере 80%, и более часто, имеет предпочтительно увеличивающуюся степень гомологии или идентичности, составляющую по меньшей мере 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% и практически 100%. Аналогично "процент (%) идентичности нуклеотидных последовательностей" относительно определенных в данном описании нуклеотидных последовательностей определяется как процентное содержание нуклеотидных остатков в кандидатной последовательности, которые являются идентичными нуклеотидным остаткам кодирующей последовательности антигенсвязывающего белка. В конкретном методе используется BLASTN модуль WU-BLAST-2 с установленными по умолчанию параметрами с интервалом перекрытия и долей перекрытия, составляющими соответственно 1 и 0,125.

[00206] В общем, гомология, сходство или идентичность между нуклеотидными последовательностями, кодирующими индивидуальные вариантные CDR, и приведенными в данном описании нуклеотидными последовательностями составляет по меньшей мере 80%, и более часто, имеет предпочтительно увеличивающуюся степень гомологии или идентичности, составляющую по меньшей мере 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% и практически 100%.

[00207] Таким образом, "вариантным CDR" является участок, обладающий определенной гомологией, сходством или идентичностью родительскому CDR, являющемуся объектом изобретения, и характеризующийся биологическим действием, составляющим, без ограничений, по меньшей мере 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от специфичности и/или активности родительского CDR.

[00208] В случае если участок или область внедрения вариации аминокислотной последовательности является predetermined, нет необходимости в predetermined самой мутации. Например, с целью оптимизации введения мутации на заданном участке можно провести случайный мутагенез в целевом кодоне или области и провести скрининг экспрессируемых вариантов CDR антигенсвязывающих белков, чтобы выбрать оптимальную комбинацию необходимой активности. Методы введения мутаций замещения в predetermined участки ДНК с известной последовательностью хорошо известны, например, это мутагенез с использованием праймеров M13 и мутагенез с использованием ПЦР. Скрининг мутантов проводят при помощи анализа антигенсвязывающей активности белка, например, связывания ST2.

[00209] Аминокислотные замены обычно состоят из одиночных остатков; инсерции обычно составляют от примерно одного (1) до примерно двадцати (20) аминокислотных остатков, хотя допустимы и значительно большие по размеру инсерции. Диапазон делеций составляет от примерно одного (1) до примерно двадцати (20) аминокислотных остатков, хотя в некоторых случаях делеции могут быть и большими.

[00210] Замены, делеции, инсерции или любые их комбинации можно использовать для получения конечного производного либо варианта. В общем случае такие изменения проводят для нескольких аминокислот, чтобы минимизировать изменение молекулы, в частности, иммуногенность и специфичность антигенсвязывающего белка. Однако при определенных обстоятельствах допустимы и более значительные изменения. Консервативные замены проводят, как правило, согласно следующей схеме, приведенной в виде Таблицы 3.

Таблица 3

Исходный остаток	Примеры замен
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln, His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn, Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile, Val
Lys	Arg, Gln, Glu
Met	Leu, Ile
Phe	Met, Leu, Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp, Phe
Val	Ile, Leu

[00211] Значительные изменения функциональности или иммунологической идентичности осуществляют, выбирая замены, менее консервативные, чем замены, приведённые в Таблице 3. Например, можно проводить замены, которые заметно влияют на: структуру полипептидного скелета в области изменения, например, структуру альфа-спирали или бета-складчатого слоя; заряд или гидрофобность молекулы на участке-мишени; или на размер боковой цепи. Заменами, для которых, как правило, предполагается, что они приводят к наибольшим изменениям в свойствах полипептидов, являются такие замены, в которых: (a) гидрофильный остаток, например, серил или треонил, заменен на гидрофобный остаток, например, лейцил, изолейцил, фенилаланил, валил или аланил; (b) цистеин или пролин заменен на любой другой остаток; (c) остаток, содержащий электроположительную боковую цепь, например, лизил, аргинил или гистидил, заменен на электроотрицательный остаток, например, глутамил или аспартил; или (d) остаток, содержащий объемную боковую цепь, например, фенилаланин, заменен на остаток, не имеющий боковой цепи, например, глицин.

[00212] Обычно варианты проявляют такую же качественную

биологическую активность и вызывают такой же иммунный ответ, как и аналог природного происхождения, хотя при необходимости выбирают также варианты для того, чтобы модифицировать характеристики антигенсвязывающих белков. Альтернативно, вариант можно сконструировать таким образом, чтобы изменить биологическую активность антигенсвязывающего белка. Например, можно изменить или удалить сайт гликозилирования, как обсуждается в данном описании.

[00213] Другие производные антител к ST2, которые входят в объем данного изобретения, включают ковалентные или агрегационные конъюгаты антител к ST2 или их фрагментов с другими белками или полипептидами, полученные, например, при экспрессии рекомбинантных слитых белков, содержащих гетерологичные полипептиды, слитые с N-концом либо C-концом полипептида антитела к ST2. Например, конъюгированный пептид может быть гетерологичным сигнальным (или лидерным) полипептидом, например, лидером альфа-фактора дрожжей, или пептидом, таким как эпитопная метка. Слитые белки, содержащие антитело к ST2, могут содержать пептиды, добавленные для того, чтобы способствовать очистке или идентификации антитела к ST2 (например, поли-His). Полипептид антитела к ST2 также может быть соединен с пептидом FLAG, как описано в Norr *et al.*, *Bio/Technology* 6:1204, 1988, и в патенте США 5,011,912. Пептид FLAG является высокоантигенным и обеспечивает наличие эпитопа, обратимо связанного специфическим моноклональным антителом (mAb), создавая возможность для быстрого анализа и легкой очистки экспрессируемого рекомбинантного белка. Реагенты, подходящие для получения слитых белков, в которых пептид FLAG слит с заданным полипептидом, являются коммерчески доступными (Sigma, Сент-Луис, Миссури).

[00214] В одном варианте осуществления получают олигомер, используя полипептид, выделенный из иммуноглобулинов. Получение слитых белков, содержащих определенные гетерологичные полипептиды, слитые с различными фрагментами выделенных из антител полипептидов (включая Fc-домен), было описано, например, Ashkenazi *et al.*, 1991, PNAS USA 88:10535; Byrn *et*

al., 1990, *Nature* 344:677; и *Hollenbaugh et al.*, 1992 "Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins", в *Current Protocols in Immunology*, Suppl. 4, страницы 10.19.1-10.19.11.

[00215] Один вариант осуществления настоящего изобретения относится к димерам, содержащим два слитых белка, полученных путем слияния ST2-связывающего фрагмента антитела к ST2 с Fc-областью антитела. Димер можно получить, к примеру, путем вставки гибридного гена, кодирующего слитый белок, в подходящий экспрессионный вектор, экспрессии гибридного гена в клетках-хозяевах, трансформированных при помощи рекомбинантного экспрессионного вектора, и обеспечения возможности сборки экспрессируемого слитого белка наподобие молекул антител, вследствие чего между Fc-элементами образуются мецепьевые дисульфидные связи, что приводит к образованию димера.

[00216] Употребляемый в данном описании термин "Fc-полипептид" включает нативные и мутеиновые формы полипептидов, выделенные из Fc-области антитела. Также включены процессированные формы таких полипептидов, содержащие шарнирный участок, который стимулирует димеризацию. Слитые белки, содержащие Fc-элементы (и образованные ими олигомеры) имеют преимущество, состоящее в легкости очистки при помощи аффинной хроматографии на колонках с протеином А или протеином G.

[00217] Одним из подходящих Fc-полипептидов, который описан в заявке согласно РСТ WO 93/10151 (включенной в данное описание посредством ссылки), является одноцепочечный полипептид, располагающийся от N-концевого шарнирного участка до нативного C-конца Fc-области человеческого антитела IgG. Другим подходящим Fc-полипептидом является Fc-мутеин, описанный в патенте США 5,457,035 и в *Baum et al.*, 1994, *EMBO J.* 13:3992-4001. Аминокислотная последовательность этого мутеина идентична нативной последовательности Fc, приведенной в WO 93/10151, за исключением того, что произведена замена аминокислоты 19 с Leu на Ala, аминокислоты 20 с Leu на Glu и аминокислоты 22 с Gly на Ala. Данный мутеин демонстрирует сниженную аффинность к рецепторам Fc.

[00218] В других вариантах осуществления переменный

фрагмент тяжелой и/или легкой цепей антитела к ST2 можно заменить переменным фрагментом тяжелой и/или легкой цепи другого антитела.

[00219] Другой способ получения олигомерных производных антитела к ST2 включает применение лейциновой молнии. Домены лейциновой молнии представляют собой пептиды, которые стимулируют олигомеризацию белков, в которых они находятся. Изначально лейциновые молнии были обнаружены в нескольких ДНК-связывающих белках (Landschulz *et al.*, 1988, *Science* 240:1759) и с тех пор были найдены в большом количестве различных белков. Среди известных лейциновых молний присутствуют пептиды природного происхождения и их производные, которые димеризуются или тримеризуются. Примеры доменов лейциновых молний, подходящих для получения растворимых олигомерных белков, описаны в заявке согласно PCT WO 94/10308, а лейциновая молния, выделенная из поверхностно-активного протеина D (SPD) легких, описана в Horpe *et al.*, 1994, *FEBS Letters* 344:191, обе работы включены в данное описание посредством ссылки. Применение модифицированной лейциновой молнии, которая обеспечивает стабильную тримеризацию слитого с ней гетерологичного белка, описано в Fanslow *et al.*, 1994, *Semin. Immunol.* 6:267-78. В одном из подходов рекомбинантные слитые белки, содержащие фрагмент или производное антитела к ST2, слитые с пептидом лейциновой молнии, экспрессируются в подходящих клетках-хозяевах, и образующиеся растворимые олигомерные фрагменты или производные антитела к ST2 выделяют из супернатанта клеточной культуры.

[00220] Ковалентные модификации антигенсвязывающих белков также включены в объем данного изобретения, и как правило, но не всегда, осуществляются посттрансляционно. Например, некоторые виды ковалентных модификаций антигенсвязывающего белка вносят в молекулу путем проведения реакции между конкретными аминокислотными остатками антигенсвязывающего белка и органическим дериватизирующим веществом, которое способно реагировать с выбранными боковыми цепями либо N- или C-концевыми остатками.

[00221] Наиболее часто проводят реакцию между остатками цистенила и α -галогенацетатами (и соответствующими аминами), такими как хлоруксусная кислота или хлорацетамид, для получения производных карбоксиметила или карбоксиамидометила. Также остатки цистенила дериватизируют при помощи проведения реакции с бромтрифторацетоном, α -бром- β -(5-имидозоил)пропионовой кислотой, хлорацетилфосфатом, N-алкилмалеимидами, 3-нитро-2-пиридилдисульфидом, метил-2-пиридилдисульфидом, п-хлормеркурбензоатом, 2-хлормеркур-4-нитрофенолом или хлор-7-нитробензо-2-окса-1,3-диазолом.

[00222] Остатки гистидила дериватизуют при помощи реакции с диэтилпирокарбонатом при pH 5,5-7,0, так как этот агент является относительно специфичным к боковой цепи гистидила. Также применяют пара-бромфенацилбромид; реакцию проводят предпочтительно в 0,1 М какодилате натрия при pH 6,0.

[00223] Для остатков лизинила и аминоконцевых остатков проводят реакцию с ангидридами янтарной или другой карбоновой кислоты. Дериватизация этими веществами приводит к изменению полярности лизиновых остатков. Другие подходящие реагенты для дериватизации альфа-аминосодержащих остатков включают имидоэфиры, такие как метилпиколинимидат; пиридоксальфосфат; пиридоксаль; хлорборгидрид; тринитробензолсульфоновую кислоту; O-метилизомочевину; 2,4-пентандион; и катализируемую трансаминазой реакцию с глиоксилатом.

[00224] Остатки аргинила модифицируют при помощи реакции с одним или несколькими общепринятыми реагентами, среди которых фенилглиоксаль, 2,3-бутандион, 1,2-циклогександион и нингидрин. Дериватизация остатков аргинина требует, чтобы реакция проводилась в щелочных условиях вследствие высокого значения pK_a функциональной группы гуанидина. Кроме того, эти реагенты могут вступать в реакцию с группами лизина, а также с epsilon-аминогруппой аргинина.

[00225] Можно проводить определенные модификации остатков тирозила с акцентом на внесении спектральных меток в остатки тирозила при помощи проведения реакции с ароматическими

соединениями диазония или тетранитрометана. Наиболее часто для образования молекул О-ацетилтирозила и 3-нитропроизводных используют, соответственно, N-ацетилимидизол и тетранитрометан. Остатки тирозила йодируют при помощи ^{125}I или ^{131}I для получения меченых белков для применения в радиоиммунологическом анализе, при этом подходит вышеописанный способ с использованием хлорамина Т.

[00226] Карбоксильные боковые группы (аспартил или глутамил) избирательно модифицируют при помощи реакции с карбодиимидами ($\text{R}'\text{-N}=\text{C}=\text{N--R}'$), где R и R' необязательно являются различными алкильными группами, такими как 1-циклогексил-3-(3-морфолинил-4-этил) карбодиимид или 1-этил-3-(4-азониа-4,4-диметилпентил) карбодиимид. Кроме того, остатки аспартила и глутамила преобразуют в остатки аспарагина и глутамина при помощи реакции с ионами аммония.

[00227] Дериватизация с бифункциональными веществами подходит для перекрестного сшивания антигенсвязывающих белков с водонерастворимой матрицей подложки или поверхностью для применения в разных методах. Обычно применяемые перекрестно сшивающие вещества включают, например, 1,1-бис(диазоацетил)-2-фенилэтан, глутаральдегид, N-гидроксисукцинимидэфиры, например эфиры с 4-азидосалициловой кислотой, гомобифункциональные имидоэфиры, включая дисукцинимидилэфиры, такие как 3,3'-дитиобис(сукцинимидилпропионат), и бифункциональные малеимиды, такие как бис-N-малеимидо-1,8-октан. Дериватирующие вещества, такие как метил-3-[(п-азидофенил) дитио]пропиоимидат, позволяют получить фотоактивируемые промежуточные продукты, которые способны к образованию перекрестных связей под действием света. Альтернативно, для иммобилизации белка используют реактивные водонерастворимые матрицы, такие как цианоген-бромид-активируемые углеводы, и реакционноспособные подложки, описанные в патентах США № 3,969,287; 3,691,016; 4,195,128; 4,247,642; 4,229,537; и 4,330,440.

[00228] Остатки глутамина и аспарагина часто дезамидируют для получения, соответственно, остатков глутамила и аспартила. Альтернативно, эти остатки дезамидируют в мягких

кислых условиях. Все формы этих остатков входят в объем данного изобретения.

[00229] Другие модификации включают гидроксилирование пролина и лизина, фосфорилирование гидроксильных групп остатков серила или треонила, метилирование α -аминогрупп лизина, аргинина и боковых цепей гистидина (Т. Е. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp. 79-86), ацетилирование N-концевого амина и амидирование любых C-концевых карбоксильных групп.

[00230] Другой вид ковалентной модификации антигенсвязывающего белка, входящий в объем данного изобретения, включает изменение профиля гликозилирования белка. Как известно в данной области техники, профили гликозилирования могут зависеть как от белковой последовательности (например, наличия или отсутствия определенных аминокислотных остатков гликозилирования, что обсуждается ниже), так и от клетки- или организма-хозяина, в котором продуцируется белок. Конкретные экспрессионные системы обсуждаются ниже.

[00231] Гликозилирование полипептидов обычно является N-связанным или O-связанным. N-связанное гликозилирование означает присоединение углеводного соединения к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X является любой аминокислотой за исключением пролина, представляют собой последовательности узнавания для ферментативного присоединения углеводной группы с боковой цепи аспарагина. Таким образом, наличие в полипептиде любой из этих трипептидных последовательностей создает потенциальный участок гликозилирования. O-связанное гликозилирование означает присоединение одного из сахаров N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы к гидроксиаминокислоте, как правило, серину или треонину, хотя также можно использовать 5-гидроксипролин или 5-гидроксилизин.

[00232] Добавление участков гликозилирования в антигенсвязывающий белок удобно проводить путем изменения

аминокислотной последовательности таким образом, чтобы она содержала одну или более из вышеописанных трипептидных последовательностей (для N-связанных участков гликозилирования). Также изменение можно осуществить путем добавления или замещения одного или более остатков серина либо треонина в исходной последовательности (для O-связанных участков гликозилирования). Для удобства аминокислотную последовательность антигенсвязывающего белка предпочтительно преобразуют путем внесения изменений на уровне ДНК, в частности, при помощи введения в кодирующую целевой полипептид ДНК мутаций в заранее выбранных основаниях, таким образом, чтобы получить кодоны, которые будут транслироваться в необходимые аминокислоты.

[00233] Другие способы увеличения количества углеводных соединений в антигенсвязывающем белке состоят в химическом или ферментативном сопряжении гликозидов с белком. Преимуществом подобных способов является то, что они не требуют выработки белка в клетке-хозяине, для которой возможно N- или O-гликозилирование. В зависимости от используемого способа сопряжения сахар(-а) можно присоединить к (а) аргинину и гистидину, (b) свободным карбоксильным группам, (с) свободным сульфгидрильным группам, таким как группы цистеина, (d) свободным гидроксильным группам, таким как группы серина, треонина или гидроксипролина, (e) ароматическим остаткам, таким как остатки фенилаланина, тирозина или триптофана, или (f) амидной группе глутамина. Данные способы описаны в WO 87/05330, опубликованной 11 сентября 1987 г., и в Aplin and Wriston, 1981, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, pp. 259-306.

[00234] Удаление углеводных групп, присутствующих в исходном антигенсвязывающем белке, можно осуществить химически или ферментативно. Химическое дегликозилирование требует обработки белка соединением трифторметансульфоновой кислоты или аналогичным соединением. Эта обработка приводит к отщеплению большинства либо всех сахаров за исключением связывающего сахара (N-ацетилглюкозамина или N-ацетилгалактозамина), при этом полипептид остается неповрежденным. Химическое

дегликозилирование описано Hakimuddin *et al.*, 1987, *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52 и Edge *et al.*, 1981, *Anal. Biochem.* 118:131. Ферментативное отщепление углеводных соединений от полипептида можно осуществить при помощи большого количества эндо- и экзогликозидаз, как описано в Thotakura *et al.*, 1987, *Meth. Enzymol.* 138:350. Гликозилирование в потенциальных участках гликозилирования можно предотвратить, используя соединение туникамицина, как описано в Duskin *et al.*, 1982, *J. Biol. Chem.* 257:3105. Туникамицин блокирует образование связей белок-N-гликозид.

[00235] Другой вид ковалентной модификации антигенсвязывающего белка включает соединение антигенсвязывающего белка с различными небелковыми полимерами, включая, но не ограничиваясь этим, различные полиолы, такие как полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль или полиоксиалкилены, способами, описанными в патентах США № 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192 или 4,179,337. В дополнение, как известно в данной области техники, аминокислотные замены можно проводить в различных позициях в пределах антигенсвязывающего белка для облегчения добавления полимеров, таких как ПЭГ.

[00236] В некоторых вариантах осуществления ковалентная модификация антигенсвязывающих белков согласно изобретению включает добавление одной или более меток.

[00237] Термин "метящая группа" обозначает любую детектируемую метку. Примеры подходящих метящих групп включают, но не ограничиваются этим, следующие элементы: радиоизотопы или радионуклиды (например, ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I), флуоресцентные группы (например, FITC, родамин, люминофоры на основе комплексов лантанидов), ферментативные группы (например, пероксидаза хрена, β -галактозидаза, люцифераза, щелочная фосфатаза), хемолюминисцентные группы, биотинильные группы, predetermined полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, парные последовательности лейциновой молнии, сайты связывания для

вторичных антител, металлосвязывающие домены, эпитопные метки). В некоторых вариантах осуществления метящая группа сопряжена с антигенсвязывающим белком посредством спейсерных "ножек" различной длины для снижения потенциального стерического несоответствия. В данной области техники известно большое количество способов для мечения белков, которые можно применять в реализации настоящего изобретения.

[00238] В общем, метки делятся на множество классов в зависимости от способа их детекции: а) изотопные метки, которые могут быть радиоактивными или тяжелыми изотопами; b) магнитные метки (например, магнитные частицы); c) редокс-активные вещества; d) оптические красители; ферментативные группы (например, пероксидаза хрена, β -галактозидаза, люцифераза, щелочная фосфатаза); e) биотинильные группы; и f) predetermined полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, парные последовательности лейциновой молнии, сайты связывания для вторичных антител, металлосвязывающие домены, эпитопные метки и т.д.). В некоторых вариантах осуществления метящая группа сопряжена с антигенсвязывающим белком посредством спейсерных "ножек" различной длины для снижения потенциального стерического несоответствия. Большое количество способов, известных в данной области техники, можно применять для мечения белков в осуществлении настоящего изобретения.

[00239] Специфические метки включают оптические красители, включая, но не ограничиваясь этим, хромофоры, люминофоры и флуорофоры, при этом последние являются специфическими во многих случаях. Флуорофоры могут быть как низкомолекулярными флуорофорами, так и белковоподобными флуорофорами.

[00240] Под "флуоресцентной меткой" подразумевается любая молекула, которую можно детектировать по ее характерным флуоресцентным свойствам. Подходящие флуоресцентные метки включают, но не ограничиваются этим, флуоресцеин, родамин, тетраметилродамин, эозин, эритрозин, кумарин, метил-кумарины, пирен, малахитовый зеленый, стильбен, люциферовый желтый,

каскад синий, тexasский красный, IAEDANS, EDANS, BODIPY FL, LC Red 640, Cy 5, Cy 5.5, LC Red 705, зеленый Орегон, красители Alexa-Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), каскад синий, каскад желтый и R-фикоэритрин (PE) (Molecular Probes, Юджин, Орегон), FITC, родамин и тexasский красный (Pierce, Рокфорд, Иллинойс), Cy5, Cy5.5, Cy7 (Amersham Life Science, Питтсбург, Пенсильвания). Подходящие оптические красители, включая флуорофоры, описаны в Molecular Probes Handbook авторства Richard P. Haugland, отдельно включенной в данное описание посредством ссылки.

[00241] Подходящие белковоподобные флуоресцентные метки также включают, но не ограничиваются этим, зеленый флуоресцентный белок, включая виды GFP Renilla, Ptilosarcus или Aequorea (Chalfie et al., 1994, *Science* 263:802-805), EGFP (Clontech Laboratories, Inc., Номер доступа в Genbank U55762), голубой флуоресцентный белок (BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada H3H 1J9; Stauber, 1998, *Biotechniques* 24:462-471; Heim et al., 1996, *Curr. Biol.* 6:178-182), усиленный желтый флуоресцентный белок (EYFP, Clontech Laboratories, Inc.), люциферазу (Ichiki et al., 1993, *J. Immunol.* 150:5408-5417), β -галактозидазу (Nolan et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2603-2607) и Renilla (WO92/15673, WO95/07463, WO98/14605, WO98/26277, WO99/49019, патенты США № 5292658, 5418155, 5683888, 5741668, 5777079, 5804387, 5874304, 5876995, 5925558). Все вышеперечисленные ссылки включены в данное описание посредством ссылки.

[00242] Приведенные в качестве примеров антигенсвязывающие белки, описанные в данном описании, обладают свойствами, обусловленными уникальным эпитопом на ST2, связываемом антигенсвязывающим белком. Термин "эпитоп" обозначает аминокислоты молекулы-мишени, с которыми контактирует антигенсвязывающий белок, например, антитело, когда

антигенсвязывающий белок связывается с молекулой-мишенью. Эпитоп может быть заменимым или незаменимым (например, (i) в одноцепочечном полипептиде это аминокислотные остатки, которые не являются заменимыми по отношению друг к другу в полипептидной последовательности, но в контексте молекулы-мишени они связываются антигенсвязывающим белком, или (ii) в мультимерном рецепторе, содержащем два или более индивидуальных компонентов, например, ST2 и АсР, это аминокислотные остатки, присутствующие в одном или более из индивидуальных компонентов, но которые связываются при этом антигенсвязывающим белком. Эпитопные детерминанты могут включать химически активные поверхностные группы молекул, такие как аминокислоты, боковые цепи сахаров, фосфорильные или сульфонильные группы, и могут иметь специфические трехмерные структурные характеристики и/или специфические зарядовые характеристики. В общем, антигенсвязывающие белки, специфические в отношении конкретной молекулы-мишени, распознают преимущественно эпитоп на молекуле-мишени в комплексной смеси из белков и/или макромолекул.

[00243] Методы характеристики связывания эпитопа антигенсвязывающим белком хорошо известны в данной области техники, включая, но не ограничиваясь этим, сортировку (перекрестное конкурирование) (Miller et al "Epitope binning of murine monoclonal antibodies by a multiplexed pairing assay" *J Immunol Methods* (2011) 365, 118-25), пептидное картирование (например, PEPSPOTTM) (Albert et al "The B-cell Epitope of the Monoclonal Anti-Factor VIII Antibody ESH8 Characterized by Peptide Array Analysis" 2008 *Thromb Haemost* 99, 634-7), методы мутагенеза, такие как получение химер (Song et al "Epitope Mapping of Ibalizumab, a Humanized Anti-CD4 Monoclonal Antibody with Anti-HIV-1 Activity in Infected Patients" *J. Virol.* (2010) 84, 6935-6942), аланиновое сканирование (Cunningham and Wells "High-resolution epitope mapping of HGH-receptor interactions by alanine-scanning mutagenesis" *Science* (1989) 244, 1081-1085), аргининовое сканирование (Lim et al "A diversity of antibody epitopes can induce signaling through the erythropoietin receptor" *Biochemistry* (2010) 49, 3797-3804),

метод HD-обмена (Coates et al "Epitope mapping by amide hydrogen/deuterium exchange coupled with immobilization of antibody, on-line proteolysis, liquid chromatography and mass spectrometry" *Rapid Commun. Mass Spectrom.* (2009) 23 639-647), ЯМР-метод с перекрестным насыщением (Morgan et al "Precise epitope mapping of malaria parasite inhibitory antibodies by TROSY NMR cross-saturation" *Biochemistry* (2005) 44, 518-23) и кристаллографию (Gerhardt et al "Structure of IL-17A in complex with a potent, fully human neutralizing antibody" *J. Mol. Biol* (2009) 394, 905-21). Данные методы различаются по уровню детализации, который они обеспечивают, в отношении аминокислот, составляющих эпитоп.

[00244] Антигенсвязывающие белки согласно изобретению включают те, которые содержат перекрывающиеся эпитопы с описанными в данном описании примерными антигенсвязывающими белками, например, Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab30, Ab32 или Ab33. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит эпитопы, аналогичные эпитопам примерных антигенсвязывающих белков. В других вариантах осуществления антигенсвязывающий белок связывает только подгруппу из аминокислот, аналогичных аминокислотам примерных антигенсвязывающих белков.

[00245] В определенных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок содержит эпитоп, идентичный или перекрывающийся с Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab30, Ab32 или Ab33, и содержит а) вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165; б) вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID

NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147; или с) переменный домен легкой цепи согласно а) и переменный домен тяжелой цепи согласно б) .

[00246] В определенных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок содержит эпитоп, идентичный или перекрывающийся с Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab30, Ab32 или Ab33, и содержит переменный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, и переменный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:96, и переменный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:30; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:97, и переменный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:31; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:98, и переменный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:32; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:99, и переменный

идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:105, и вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:39; те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:163, и вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:145; те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:164, и вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:146; и те, которые содержат вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:165, и вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95% или являющийся идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:147.

[00247] В определенных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок содержит эпитоп, идентичный или перекрывающийся с Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab30, Ab32 или Ab33, и содержит а) вариабельный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165; b) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности,

приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147; или с) переменный домен легкой цепи согласно а) и переменный домен тяжелой цепи согласно b).

[00248] В определенных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок содержит эпитоп, идентичный или перекрывающийся с Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab30, Ab32 или Ab33, и содержит переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:96, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:30; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:97, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:31; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:98, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в

[illegible]

цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:104, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:38; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:105, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:39; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:163, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:145; те, которые содержат переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:164, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:146; и те, которые содержат переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:165, и переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти или не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:147.

[00249] В определенных вариантах осуществления ST2-

антигенсвязывающий белок содержит эпитоп, идентичный или перекрывающийся с Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab30, Ab32 или Ab33, и содержит вариабельный домен легкой цепи, содержащий а) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:106; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:117; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:128; б) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:107; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:118; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:129; в) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:108; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:119; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:130; г) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:109; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:120; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:131; д) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:110; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно

[illegible]

[illegible]

последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:72; z) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:148; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:151; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:154; aa) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:149; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:152; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:155; или bb) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:150; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:153; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:156.

[00250] Предпочтительные ST2-антигенсвязывающие белки, описанные непосредственно выше, включают те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно а) и переменный домен тяжелой цепи согласно о); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно b) и переменный домен тяжелой цепи согласно p); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно с) и переменный домен тяжелой цепи согласно q); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно d) и переменный домен тяжелой цепи согласно r); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно e) и переменный домен тяжелой цепи согласно s); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно f) и переменный домен тяжелой цепи согласно t); те, которые

содержат переменный домен легкой цепи согласно g) и переменный домен тяжелой цепи согласно u); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно h) и переменный домен тяжелой цепи согласно v); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно i) и переменный домен тяжелой цепи согласно w); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно j) и переменный домен тяжелой цепи согласно x); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно k) и переменный домен тяжелой цепи согласно y); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно l) и переменный домен тяжелой цепи согласно z); те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно m) и переменный домен тяжелой цепи согласно aa); и те, которые содержат переменный домен легкой цепи согласно n) и переменный домен тяжелой цепи согласно bb).

[00251] Антигенсвязывающие белки, которые содержат идентичный или перекрывающийся эпитоп, часто перекрестно конкурируют за связывание антигена. Таким образом, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок по изобретению перекрестно конкурирует с Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10, Ab11, Ab30, Ab32 или Ab33. Выражения "перекрестно конкурировать" или "перекрестная конкуренция" означают, что антигенсвязывающие белки конкурируют за один и тот же эпитоп или участок связывания на мишени. Такую конкуренцию можно обнаружить при помощи метода, в котором контрольный антигенсвязывающий белок (например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент) предотвращает или подавляет специфическое связывание исследуемого антигенсвязывающего белка и наоборот. Для того чтобы определить, конкурирует ли исследуемая молекула с контрольной молекулой за связывание, можно использовать многочисленные виды анализа конкурентного связывания. Примеры применимых аналитических методов включают твердофазный прямой и непрямой радиоиммунологический анализ (RIA), твердофазный прямой и непрямой иммуноферментный анализ (EIA), конкурентный "сэндвич"-метод (см., например, Stahli et

al. (1983) *Methods in Enzymology* 9:242-253), твердофазный прямой биотин-авидиновый EIA (см., например, Kirkland et al., (1986) *J. Immunol.* 137:3614-3619), твердофазный прямой анализ с использованием меток, твердофазный прямой "сэндвич"-анализ с использованием меток, Luminex (Jia et al "A novel method of Multiplexed Competitive Antibody Binning for the characterization of monoclonal antibodies" *J. Immunological Methods* (2004) 288, 91-98) и поверхностный плазмонный резонанс (Song et al "Epitope Mapping of Ibalizumab, a Humanized Anti-CD4 Monoclonal Antibody with Anti-HIV-1 Activity in Infected Patients" *J. Virol.* (2010) 84, 6935-6942). Примерный метод для определения перекрестной конкуренции описан в Примере 5. Обычно, если конкурирующий антигенсвязывающий белок присутствует в избыточном количестве, он подавляет связывание контрольного антигенсвязывающего белка с общим антигеном по меньшей мере на 50%, 55%, 60%, 65%, 70% или 75%. В некоторых случаях связывание подавляется по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более.

[00252] Ab2 связывает ST2 человека и яванского макака с высокой аффинностью и блокирует связывание IL-33 с ST2, таким образом блокируя IL-33-опосредованную передачу сигнала ST2. Антитела, содержащие идентичные, сходные или перекрывающиеся с Ab2 эпитопы также могут иметь эти характерные особенности. В предпочтительных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок перекрестно конкурирует с Ab2 за связывание с ST2. Примеры ST2-антигенсвязывающих белков, которые перекрестно конкурируют с Ab2, включают Ab1, Ab3, Ab5, Ab7, Ab8 и Ab30 (см. Пример 5). Чтобы найти антитела, которые связывают перекрывающийся, сходный или идентичный эпитоп, что и Ab2, можно исследовать одно или более антител на предмет перекрестного конкуритования с Ab2. Более того, получая варианты антитела, которое перекрестно реагирует с Ab2, можно исследовать такие антитела, чтобы определить, сохраняется ли перекрестная конкуренция после вариации, предполагая, что эпитоп варианта несущественно изменен по сравнению с родительской молекулой. Таким образом, В определенных вариантах

осуществления в изобретении предложены варианты антитела, которые перекрестно конкурируют с Ab2 за связывание с ST2.

[00253] Кроме перекрестного конкурирования друг с другом на антитела с перекрывающимися, сходными или идентичными эпитопами может аналогично воздействовать мутагенез ST2. Определенные мутации могут подавлять связывание антитела; другие могут усиливать или активировать связывание. В Примере 11 проводили аргинин/аланин сканирующий мутагенез части внеклеточного домена ST2 и определяли его воздействие на приведенные в качестве примеров антитела. В объем данного изобретения включены ST2-связывающие белки, характеризующиеся аналогичным воздействием на них мутагенеза, что и приведенные в качестве примеров антитела.

[00254] В определенных вариантах осуществления связывание ST2-антигенсвязывающего белка подавляется введением одиночной мутации в ST2, при этом одиночная мутация выбрана из группы, состоящей из L14R, I15R, S33R, E43R, V47R, A62R, G65R, T79R, D92R, D97R, V104R, G138R, N152R и V176R. В предпочтительных вариантах осуществления любые две или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, десять или более либо все одиночные мутации из вышеприведенной группы независимо подавляют связывание ST2-связывающего белка. В других вариантах осуществления связывание ST2-антигенсвязывающего белка активируется введением одиночной мутации в ST2, при этом одиночная мутация выбрана из группы, состоящей из L53R, R72A и S73R. В предпочтительных вариантах осуществления все одиночные мутации из вышеприведенной группы независимо активируют связывание ST2-связывающего белка. В предпочтительных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок обладает характерными свойствами Ab2, которые подавляются любой из L14R, I15R, S33R, E43R, V47R, A62R, G65R, T79R, D92R, D97R, V104R, G138R, N152R и V176R и активируются любой из L53R, R72A, S73R.

[00255] Другим методом анализа антитела на основании его эпитопа является амидный водородно-дейтериевый обмен (HDX). HDX широко применялся в изучении белковой конформации и динамики,

взаимодействий белок-лиганд и белок-белковых взаимодействий (Zhang and Smith 1993, Engen and Smith 2001). Масс-спектрометрические измерения обеспечивают эффективный инструмент для определения степени обмена, так как замещение одного водорода дейтерием приводит к увеличению массы на 1 Да при каждом обмене. Степень HDX легко можно определить на уровне пептида, анализируя протеолитическое расщепление белка при помощи жидкостной хроматографии совместно с тандемной масс-спектрометрией в регулируемых условиях (Engen and Smith 2001, Baerga-Ortiz, Hughes et al. 2002, Codreanu, Ladner et al. 2002, Hamuro, Coales et al. 2006, Coales, Tuske et al. 2009, Zhang, Zhang et al. 2012).

[00256] Путем сравнения HDX-профилей антигена для протеолитического расщепления ST2 в отсутствие или в присутствии антитела (в свободном и связанном состоянии) можно обнаружить участки взаимодействия. В частности, когда антитело связывается с ST2, доступные для растворителя водороды амида свободного ST2 могут оказаться защищенными, и в результате чего наблюдается более низкая скорость обмена. Следовательно, те участки, которые в присутствии антитела получают меньше дейтерия, чем в его отсутствие, потенциально являются связывающими эпитопами. Другие факторы, включающие скорость обмена в свободном состоянии, знание белковой структуры антигена, а также результаты других методов картирования эпитопов, учитываются при определении эпитопов.

[00257] Связывание Ab2 с ST2 анализировали при помощи HDX, как описано в Примере 12. Анализ показывает, что Ab2 связывается с/изменяет скорость обмена фрагмента структуры ST2, содержащей аминокислоты 33-44 и 88-94 из аминокислот 19-322 из SEQ ID NO:1 (аминокислоты 15-26 и 70-76 зрелого ST2, соответственно). Антитела с перекрывающимися эпитопами, сходными или идентичными эпитопами с Ab2, также будут связываться с/изменять скорость обмена аминокислот в пределах 33-44 и 88-94 из SEQ ID NO:1. В определенных вариантах осуществления ST2-связывающий белок, например, антитело, защищает любую из аминокислот 33-44 из SEQ ID NO:1 при

связывании с ST2 и анализе при помощи HDX. В других вариантах осуществления защищены любые из аминокислот 88-94. Оба варианта указывают на частичное перекрывание связывающих эпитопов с Ab2. В предпочтительных вариантах осуществления защищены любые аминокислоты из 33-44 и любые из 88-94. В определенных вариантах осуществления ST2-связывающий белок, например, антитело, защищает все аминокислоты 33-44 из SEQ ID NO:1 при связывании с ST2 и анализе при помощи HDX. В других вариантах осуществления защищены все аминокислоты 88-94. Оба варианта указывают на наличие сходного связывающего эпитопа с Ab2. В предпочтительных вариантах осуществления защищены все аминокислоты из 33-44 и все из 88-94, что указывает на наличие идентичного или практически идентичного эпитопа с Ab2.

[00258] Связывание Ab2 с ST2 дополнительно анализировали при помощи рентгеновской кристаллографии. Данные рентгеновской кристаллографии согласовывались с данными HDX-анализа. Область контакта между Ab и антигеном можно определить/выявить большим количеством способов. В Примере 13 область контакта определяли по разнице в площади поверхности, доступной для растворителя, и по расстоянию. Остатками ST2, находящимися в пределах области контакта с Ab2, определенными по разнице в площади поверхности, доступной для растворителя, и по расстоянию менее 5Å, являются (в соответствии с позициями в зрелом ST2 (с отсутствующей лидерной последовательностью)) K1, F2, P19, R20, Q21, G22, K23, Y26, I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79 и Y81. В определенных вариантах осуществления ST2-связывающий белок образует область контакта с ST2, которая перекрывается с таковой у Ab2, включая те варианты, в которых любые из K1, F2, P19, R20, Q21, G22, K23, Y26, I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79 или Y81 находятся в пределах области контакта. В некоторых вариантах осуществления ST2-связывающий белок образует область контакта с ST2, где P19, R20, Q21, G22, K23 и/или Y26 находятся в пределах области контакта. В других вариантах осуществления I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79 и/или Y81 находятся в пределах области контакта. В предпочтительных вариантах осуществления K1, F2, P19, R20, Q21,

G22, K23, Y26, I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79 и Y81 находятся в пределах области контакта.

[00259] Кристаллическая структура указывает на то, что определенные аминокислотные остатки образуют водородные связи или соляные мостики с аминокислотами Ab2. Такие остатки включают K1, R20, K23, Y26, T75, N77, R78 и T79. В определенных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок образует водородные связи или соляные мостики с одним или более из K1, R20, K23, Y26, T75, N77, R78 и T79.

[00260] Кристаллическая структура дополнительно дает информацию относительно того, какие остатки Ab2 образуют область контакта с ST2. На ФИГ.10 показаны остатки в переменном участке легкой цепи и переменном участке тяжелой цепи, которые образуют область контакта с ST2. Также показаны остатки, которые образуют водородные связи или соляные мостики с аминокислотами в ST2. Эту информацию можно использовать для конструирования вариантов Ab2, включая те, которые содержат переменные домены, являющиеся на 90% идентичными, на 95% идентичными, и 10 или менее инсерций, делеций и/или замен в пределах переменного домена легкой цепи или тяжелой цепи Ab2. Может возникнуть необходимость сохранения аминокислот в пределах области контакта, и при этом изменения остатков, не входящих в эту область. Таким образом, можно сконструировать и получить варианты Ab2, содержащие одну или более аминокислотных вставок, замен и/или делеций в пределах одного или более CDR, принадлежащих Ab2, которые поддерживают связывание с ST2.

[00261] В некоторых вариантах осуществления ST2-связывающий белок содержит вариант переменного участка легкой цепи Ab2 (SEQ ID NO:96), в котором D28, I29, S30, N31, Y32, Y49, D50, N53, E55, T56, D91, D92, N93, F94 и/или L96 остаются неизмененными или содержат консервативные замены, и/или вариант переменного участка тяжелой цепи Ab2 (SEQ ID NO:30), в котором W33, I50, D57, R59, H99, G100, T101, S102, S103, D104, Y105 и/или Y106 остаются неизмененными или содержат консервативные мутации. В предпочтительных вариантах осуществления D28, N31, D50, N53, E55, D91 и D92 переменного

участка легкой цепи остаются неизмененными и S102, S103, D104 и Y105 тяжелой цепи остаются неизмененными.

Полинуклеотиды, кодирующие ST2-антигенсвязывающие белки

[00262] В данное изобретение включены нуклеиновые кислоты, кодирующие ST2-антигенсвязывающие белки, включая антитела, определенные в данном описании. Предпочтительные нуклеиновые кислоты включают те, которые кодируют приведенные в качестве примеров и описанные в данном описании легкие и тяжелые цепи.

[00263] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab1 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:73.

[00264] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab2 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:74.

[00265] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab3 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:75.

[00266] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab4 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:76.

[00267] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab5 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:77.

[00268] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab6 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:78.

[00269] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab7 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:79.

[00270] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab8 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:80.

[00271] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab9 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:81.

[00272] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab10 LC,

является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:82.

[00273] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab11 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:83.

[00274] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab30 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:157.

[00275] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab32 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:158.

[00276] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab33 LC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:159.

[00277] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab1 HC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:7.

[00278] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab2 HC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:8.

[00279] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab3 HC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:9.

[00280] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab4 HC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:10.

[00281] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab5 HC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:11.

[00282] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab6 HC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:12.

[00283] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab7 HC, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:13.

[00284] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab8 HC,

является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:14.

[00285] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab9 НС, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:15.

[00286] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab10 НС, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:16.

[00287] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab11 НС, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:17.

[00288] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab30 НС, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:139.

[00289] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab32 НС, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:140.

[00290] Примером нуклеиновой кислоты, кодирующей Ab33 НС, является нуклеиновая кислота, содержащая последовательность, приведенную в SEQ ID NO:141.

[00291] Аспекты осуществления данного изобретения включают полинуклеотидные варианты (полученные, например, вследствие дегенерации), которые кодируют описанные в данном описании аминокислотные последовательности.

[00292] Аспекты осуществления данного изобретения включают множество вариантов реализации, включая, но не ограничиваясь этим, следующие приведенные в качестве примеров варианты осуществления.

[00293] Выделенный полинуклеотид, где указанный полинуклеотид кодирует один или более полипептидов, содержащих аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

[00294] А. 1. Последовательности переменного домена легкой цепи, являющейся по меньшей мере на 90% идентичной последовательности переменного домена легкой цепи, приведенной в SEQ ID NO:95-105, 163-165;

[00295] 2. Последовательности переменного домена тяжелой цепи, являющейся по меньшей мере на 90% идентичной последовательности переменного домена тяжелой цепи, приведенной в SEQ ID NO:29-39, 145-147;

[00296] 3. Переменного домена легкой цепи согласно (1) и переменного домена тяжелой цепи согласно (2); и

[00297] В. Переменного домена легкой цепи, содержащего CDR1, CDR2, CDR3, и/или переменного домена тяжелой цепи, содержащего CDR1, CDR2, CDR3, которые являются одинаковыми или различаются не более чем на три аминокислотные вставки, замены и/или делеции в каждом CDR из следующих последовательностей:

[00298] 1. CDR1 (SEQ ID NO:106), CDR2 (SEQ ID NO:117), CDR3 (SEQ ID NO:128) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:40), CDR2 (SEQ ID NO:51), CDR3 (SEQ ID NO:62) тяжелой цепи, принадлежащие Ab1;

[00299] 2. CDR1 (SEQ ID NO:107), CDR2 (SEQ ID NO:118), CDR3 (SEQ ID NO:129) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:41), CDR2 (SEQ ID NO:52), CDR3 (SEQ ID NO:63) тяжелой цепи, принадлежащие Ab2;

[00300] 3. CDR1 (SEQ ID NO:108), CDR2 (SEQ ID NO:119), CDR3 (SEQ ID NO:130) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:42), CDR2 (SEQ ID NO:53), CDR3 (SEQ ID NO:64) тяжелой цепи, принадлежащие Ab3;

[00301] 4. CDR1 (SEQ ID NO:109), CDR2 (SEQ ID NO:120), CDR3 (SEQ ID NO:131) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:43), CDR2 (SEQ ID NO:54), CDR3 (SEQ ID NO:65) тяжелой цепи, принадлежащие Ab4;

[00302] 5. CDR1 (SEQ ID NO:110), CDR2 (SEQ ID NO:121), CDR3 (SEQ ID NO:132) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:44), CDR2 (SEQ ID NO:55), CDR3 (SEQ ID NO:66) тяжелой цепи, принадлежащие Ab5;

[00303] 6. CDR1 (SEQ ID NO:111), CDR2 (SEQ ID NO:122), CDR3 (SEQ ID NO:133) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:45), CDR2 (SEQ ID NO:56), CDR3 (SEQ ID NO:67) тяжелой цепи, принадлежащие Ab6;

[00304] 7. CDR1 (SEQ ID NO:112), CDR2 (SEQ ID NO:123),

CDR3 (SEQ ID NO:134) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:46), CDR2 (SEQ ID NO:57), CDR3 (SEQ ID NO:68) тяжелой цепи, принадлежащие Ab7;

[00305] 8. CDR1 (SEQ ID NO:113), CDR2 (SEQ ID NO:124), CDR3 (SEQ ID NO:135) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:47), CDR2 (SEQ ID NO:58), CDR3 (SEQ ID NO:69) тяжелой цепи, принадлежащие Ab8;

[00306] 9. CDR1 (SEQ ID NO:114), CDR2 (SEQ ID NO:125), CDR3 (SEQ ID NO:136) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:48), CDR2 (SEQ ID NO:59), CDR3 (SEQ ID NO:70) тяжелой цепи, принадлежащие Ab9;

[00307] 10. CDR1 (SEQ ID NO:115), CDR2 (SEQ ID NO:126), CDR3 (SEQ ID NO:137) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:49), CDR2 (SEQ ID NO:60), CDR3 (SEQ ID NO:71) тяжелой цепи, принадлежащие Ab10;

[00308] 11. CDR1 (SEQ ID NO:116), CDR2 (SEQ ID NO:127), CDR3 (SEQ ID NO:138) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:50), CDR2 (SEQ ID NO:61), CDR3 (SEQ ID NO:72) тяжелой цепи, принадлежащие Ab11;

[00309] 12. CDR1 (SEQ ID NO:166), CDR2 (SEQ ID NO:169), CDR3 (SEQ ID NO:172) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:148), CDR2 (SEQ ID NO:151), CDR3 (SEQ ID NO:154) тяжелой цепи, принадлежащие Ab30;

[00310] 13. CDR1 (SEQ ID NO:167), CDR2 (SEQ ID NO:170), CDR3 (SEQ ID NO:173) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:149), CDR2 (SEQ ID NO:152), CDR3 (SEQ ID NO:155) тяжелой цепи, принадлежащие Ab32; и

[00311] 14. CDR1 (SEQ ID NO:168), CDR2 (SEQ ID NO:171), CDR3 (SEQ ID NO:174) легкой цепи или CDR1 (SEQ ID NO:150), CDR2 (SEQ ID NO:153), CDR3 (SEQ ID NO:156) тяжелой цепи, принадлежащие Ab33.

[00312] В предпочтительных вариантах осуществления полипептид, кодируемый выделенной нуклеиновой кислотой, является компонентом антигенсвязывающего белка, который связывает ST2.

[00313] Нуклеотидные последовательности, соответствующие

описанным в данном описании аминокислотным последовательностям, предназначенные для того, чтобы служить зондами или праймерами для выделения нуклеиновых кислот или поисковыми последовательностями для проведения поиска по базам данных, можно получить при помощи "обратной трансляции" аминокислотных последовательностей или при помощи определения участков аминокислотной идентичности с полипептидами, для которых была определена кодирующая последовательность ДНК. Хорошо известную процедуру полимеразной цепной реакции (ПЦР) можно применять для выделения и амплификации последовательности ДНК, кодирующей ST2-антигенсвязывающие белки или необходимую комбинацию полипептидных фрагментов ST2-антигенсвязывающего белка. Олигонуклеотиды, которые определяют необходимые концы в комбинации из фрагментов ДНК, применяют в качестве 5' и 3' праймеров. Олигонуклеотиды могут дополнительно содержать участки распознавания рестрикционных эндонуклеаз, чтобы облегчить инсерцию амплифицированной комбинации из фрагментов ДНК в экспрессионный вектор. Методы ПЦР описаны в Saiki et al., *Science* 239:487 (1988); *Recombinant DNA Methodology*, Wu et al., eds., Academic Press, Inc., San Diego (1989), pp. 189-196; и *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Innis et. al., eds., Academic Press, Inc. (1990).

[00314] Молекулы нуклеиновых кислот согласно изобретению включают ДНК и РНК, как в одноцепочечной, так и в двухцепочечной формах, а также соответствующие комплементарные последовательности. ДНК включают, например, кДНК, геномную ДНК, химически синтезированную ДНК, ДНК, амплифицированную при помощи ПЦР, и их комбинации. Молекулы нуклеиновых кислот согласно изобретению включают полноразмерные гены или молекулы кДНК, а также комбинации из их фрагментов. Нуклеиновые кислоты согласно изобретению предпочтительно получены из источников человеческого происхождения, но в изобретение также включены нуклеиновые кислоты, полученные от других видов.

[00315] "Выделенной нуклеиновой кислотой" является нуклеиновая кислота, которая была отделена от смежных генетических последовательностей, присутствующих в геноме

организма, из которого была выделена нуклеиновая кислота, в случае нуклеиновых кислот, выделенных из источников природного происхождения. В случае нуклеиновых кислот, ферментативно синтезированных с матрицы или синтезированных химически, таких как продукты ПЦР, молекулы кДНК или, например, олигонуклеотиды, понятно, что нуклеиновые кислоты, полученные при помощи данных процессов, являются выделенными нуклеиновыми кислотами. Выделенной молекулой нуклеиновой кислоты называется молекула нуклеиновой кислоты в виде отдельного фрагмента или в виде компонента более крупной нуклеотидной конструкции. В одном предпочтительном варианте осуществления нуклеиновые кислоты являются в значительной степени чистыми от примесного эндогенного материала. Предпочтительно молекула нуклеиновой кислоты получена из ДНК или РНК, которые по меньшей мере один раз были выделены в по существу чистом виде в количестве или при концентрации, которые позволяют провести идентификацию, обработку и выделение компонентов их нуклеотидных последовательностей стандартными биохимическими методами (такими как те, что описаны в Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989)). Такие последовательности предпочтительно предоставляются и/или конструируются в виде открытой рамки считывания, не прерываемой внутренними нетранслируемыми последовательностями, или интронами, которые обычно присутствуют в эукариотических генах. Последовательности нетранслируемой ДНК могут присутствовать в направлениях 5' или 3' от открытой рамки считывания, где они не мешают манипуляциям с или экспрессии кодирующей области.

[00316] Также в настоящее изобретение включены нуклеиновые кислоты, которые гибридизируются в условиях умеренной жесткости, и более предпочтительно, в условиях высокой жесткости, с нуклеиновыми кислотами, кодирующими описанные в данном описании ST2-антигенсвязывающие белки. Базовые параметры, влияющие на выбор условий гибридизации, и руководство по выбору подходящих условий приведены в Sambrook, Fritsch, and Maniatis (1989, *Molecular Cloning: A Laboratory*

Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., главы 9 и 11; и Current Protocols in Molecular Biology, 1995, Ausubel et al., eds., John Wiley & Sons, Inc., разделы 2.10 и 6.3-6.4), и могут быть легко определены специалистами в данной области техники на основании, например, длины и/или состава оснований ДНК. Один из способов обеспечения условий умеренной жесткости включает использование раствора для предварительной отмывки, содержащего 5×SSC, 0,5% SDS, 1,0 мМ EDTA (pH 8,0), гибридизационного буфера из приблизительно 50% формамида, 6×SSC, и температуры гибридизации примерно 55 градусов Цельсия (либо других сходных гибридизационных растворов, таких как раствор, содержащий приблизительно 50% формамид, с температурой гибридизации примерно 42 градусов Цельсия), и отмывочных условий при примерно 60 градусов Цельсия, в 0,5×SSC, 0,1% SDS. В общем случае условия высокой жесткости определяются так же, как и приведенные выше условия гибридизации, но с отмывкой при приблизительно 68 градусах Цельсия, в 0,2×SSC, 0,1% SDS. В гибридизационном и отмывочном буферах SSC (1×SSC представляет собой 0,15 М NaCl и 15 мМ цитрата натрия) можно заменить на SSPE (1×SSPE представляет собой 0,15 М NaCl, 10 мМ NaH₂PO₄ и 1,25 мМ EDTA, pH 7,4); отмывку проводят через 15 минут после завершения гибридизации. Стоит понимать, что отмывочную температуру и концентрацию соли можно при необходимости доводить так, как это необходимо для достижения желаемой степени жесткости, опираясь на основные принципы, которые влияют на реакции гибридизации и стабильность спиралей, как известно специалистам в данной области техники и дополнительно описано ниже (см., например, Sambrook et al., 1989). При гибридизации нуклеиновой кислоты с целевой нуклеиновой кислотой из неизвестной последовательности за длину гибрида принимают длину гибридизирующейся нуклеиновой кислоты. При гибридизации нуклеиновых кислот с известными последовательностями длину гибрида можно определить путем выравнивания нуклеотидных последовательностей и выявления области или областей с оптимальной комплементарностью

последовательностей. Температура гибридизации для гибридов с предполагаемой длиной менее 50 пар оснований должна быть на 5–10 градусов Цельсия ниже температуры плавления (T_m) гибрида, при этом T_m определяют согласно следующим уравнениям. Для гибридов длиной менее 18 пар оснований: T_m (градусы Цельсия) = $2(\# \text{ оснований } A + T) + 4(\# \text{ оснований } G + C)$. Для гибридов длиной более 18 пар оснований: T_m (градусы Цельсия) = $81,5 + 16,6(\log_{10} [Na^+]) + 0,41(\%G + C) - (600/N)$, где N – количество оснований в гибриде, а $[Na^+]$ – концентрация ионов натрия в гибридизационном буфере ($[Na^+]$ для $1 \times SSC = 0,165$ М). Предпочтительно, каждая из гибридизирующихся нуклеиновых кислот имеет длину, составляющую по меньшей мере 15 нуклеотидов (или, более предпочтительно, по меньшей мере 18 нуклеотидов, или по меньшей мере 20 нуклеотидов, или по меньшей мере 25 нуклеотидов, или по меньшей мере 30 нуклеотидов, или по меньшей мере 40 нуклеотидов, или, наиболее предпочтительно, по меньшей мере 50 нуклеотидов) либо по меньшей мере 25% (более предпочтительно, по меньшей мере 50%, или по меньшей мере 60%, или по меньшей мере 70% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 80%) от длины нуклеиновой кислоты согласно изобретению, с которой она гибридизируется, и является по меньшей мере на 60% (более предпочтительно, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%, и наиболее предпочтительно по меньшей мере 99,5%) идентичной последовательностям с нуклеиновой кислотой согласно изобретению, с которой она гибридизируется, причем идентичность последовательностей определяют путем сравнения последовательностей гибридизирующихся нуклеиновых кислот при выравнивании их таким образом, чтобы максимизировать

перекрывание и идентичность, при этом минимизируя гэпы в последовательностях, как более детально описано выше.

[00317] Варианты согласно изобретению получают при помощи стандартного сайт-специфического мутагенеза нуклеотидов в ДНК, кодирующей антигенсвязывающий белок, используя кассету или ПЦР-мутагенез либо другие известные в данной области техники способы для получения ДНК, кодирующей вариант, и впоследствии экспрессируя рекомбинантную ДНК в клеточной культуре, как описывается в данном описании. При этом фрагменты антигенсвязывающего белка, содержащие вариантные CDR, имеющие в своем составе до примерно 100-150 остатков, можно получать при помощи *in vitro* синтеза, используя известные методы. Обычно варианты демонстрируют такую же качественную биологическую активность, что и их аналоги природного происхождения, например, связывание с ST2, хотя варианты также можно выбирать так, чтобы они имели модифицированные характеристики, как более детально будет описано ниже.

[00318] Для специалиста в данной области техники понятно, что вследствие дегенерации генетического кода можно получить очень большое количество нуклеиновых кислот, все из которых кодируют CDR (а также тяжелые и легкие цепи или другие компоненты антигенсвязывающего белка) согласно изобретению. Таким образом, определив состав конкретной аминокислотной последовательности, специалисты в данной области техники могут получить любое количество различных нуклеиновых кислот, просто модифицируя последовательность одного или более кодонов способом, который не приводит к изменению аминокислотной последовательности кодируемого белка.

[00319] Также в настоящем изобретении предложены экспрессионные системы и конструкции в виде плазмид, экспрессионных векторов, транскрипционных или экспрессионных кассет, которые содержат по меньшей мере один из вышеописанных полинуклеотидов. Дополнительно, в изобретении предложены клетки-хозяева, содержащие такие экспрессионные системы или конструкции.

[00320] Обычно экспрессионные векторы применяют в любых

клетках-хозяевах, которые содержат последовательности для поддержания плазмид и для клонирования и экспрессии экзогенных нуклеотидных последовательностей. Такие последовательности, в совокупности называемые "фланкирующими последовательностями", в определенных вариантах осуществления обычно содержат одну или более из следующих нуклеотидных последовательностей: промотор, одну или более энхансерных последовательностей, точку начала репликации, последовательность терминации транскрипции, полную интронную последовательность, содержащую донорный и акцепторный сайт сплайсинга, последовательность, кодирующую лидерную последовательность для секреции полипептида, участок связывания рибосомы, последовательность полиаденилирования, полилинкерный участок для инсерции нуклеиновой кислоты, кодирующей предназначенный для экспрессии полипептид, и селективируемый маркерный элемент. Каждая из этих последовательностей обсуждается ниже.

[00321] Необязательно, вектор может содержать последовательность, кодирующую "метку", т.е., молекулу олигонуклеотида, расположенную в 5' или 3' конце кодирующей последовательности ST2-антигенсвязывающего белка; олигонуклеотидная последовательность кодирует полиHis (например, гексаHis) или любую другую "метку", такую как FLAG, HA (гемагглютинин вируса гриппа) или *тус*, для которых существуют коммерчески доступные антитела. Обычно такая метка сливается с полипептидом при экспрессии полипептида и может служить в качестве средства для аффинной очистки или детекции ST2-антигенсвязывающего белка в клетке-хозяине. Аффинную очистку можно осуществить, например, при помощи хроматографии на колонках, используя в качестве аффинной матрицы антитела к метке. Необязательно, метку из очищенного ST2-антигенсвязывающего белка можно впоследствии удалить различными способами, такими как применение определенных пептидаз для расщепления.

[00322] Фланкирующие последовательности могут быть гомологичными (т.е., полученными от тех же видов и/или штаммов, что и клетка-хозяин), гетерологичными (т.е., полученными от

видов, отличных от вида или штамма клетки-хозяина), гибридными (т.е., представляющими комбинацию из фланкирующих последовательностей из более чем одного источника), синтетическими или нативными. Следовательно, источником фланкирующей последовательности может быть любой прокариотический или эукариотический организм, любой организм позвоночного или беспозвоночного животного либо любое растение, при условии, что фланкирующая последовательность является функциональной и может быть активирована механизмом клетки-хозяина.

[00323] Фланкирующие последовательности, применяемые в векторах согласно изобретению, можно получить любым из нескольких известных в данной области техники способов. Обычно, фланкирующие последовательности, применяемые в данной работе, являются предварительно идентифицированными при помощи картирования и/или расщепления рестрикционными эндонуклеазами, и, следовательно, могут быть выделены из соответствующего тканевого источника при помощи подходящих рестрикционных эндонуклеаз. В некоторых случаях может быть известна полная нуклеотидная последовательность фланкирующей последовательности. В данном случае фланкирующую последовательность можно синтезировать при помощи описанных в данном описании методов синтеза или клонирования нуклеиновых кислот.

[00324] В случае, если известна вся последовательность или фрагмент фланкирующей последовательности, ее можно получить, используя полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и/или при помощи скрининга геномной библиотеки с подходящим зондом, таким как олигонуклеотид и/или фрагмент фланкирующей последовательности того же или другого вида. В случае если фланкирующая последовательность неизвестна, можно выделить фрагмент ДНК, содержащий фланкирующую последовательность, из более крупного участка ДНК, который может содержать, например, кодирующую последовательность или даже другой ген или гены. Выделение можно осуществить при помощи расщепления рестрикционными эндонуклеазами для получения необходимого фрагмента ДНК с

последующим выделением с использованием очистки в агарозном геле, хроматографии на колонках Qiagen® (Чатсворт, Калифорния) или других известных специалисту в данной области техники методов. Выбор подходящих ферментов для реализации данной цели не вызовет трудностей у специалиста в данной области техники.

[00325] Точкой начала репликации обычно является фрагмент прокариотических векторов экспрессии, приобретаемых на коммерческой основе, и такая точка помогает при амплификации вектора в клетке-хозяине. Если выбранный вектор не содержит начала участка репликации, его можно синтезировать химически на основании известной последовательности и лигировать в вектор. Например, точка начала репликации из плазмиды pBR322 (New England Biolabs, Беверли, Массачусетс) подходит для большинства грамотрицательных бактерий, а большое количество вирусных точек (например, SV40, полиомы, аденовируса, вируса везикулярного стоматита (VSV) или папилломавирусов, таких как HPV или BVP) подходят для клонирующих векторов в клетках млекопитающих. В общем, компонент точки начала репликации не является необходимым для векторов экспрессии млекопитающих (например, точку из SV40 часто используют только потому, что она также содержит ранний вирусный промотор).

[00326] Последовательность терминции транскрипции обычно располагается в 3' конце кодирующей области полипептида и служит для терминции транскрипции. Обычно в прокариотических клетках последовательность терминции транскрипции представляет собой богатый G-C фрагмент, за которым следует поли-T последовательность. Так как данную последовательность легко клонировать из библиотеки или даже приобрести на коммерческой основе как часть вектора, ее также легко синтезировать, используя методы для нуклеотидного синтеза, такие как те, что описаны в данном описании.

[00327] Ген селектируемого маркера кодирует белок, необходимый для выживания и роста клетки-хозяина, выращенной в селективной культуральной среде. Типичные гены селективных маркеров кодируют белки, которые (а) придают прокариотическим клеткам-хозяевам устойчивость к антибиотикам или другим

токсинам, например, ампициллину, тетрациклину или канамицину; (b) восполняют ауксотрофные недостатки в клетках; или (c) поставляют необходимые питательные вещества, недоступные в комплексной среде или среде с определенным составом. Конкретными селектируемыми маркерами являются ген устойчивости к канамицину, ген устойчивости к ампициллину и ген устойчивости к тетрациклину. Также удобно использовать ген устойчивости к неомицину для селекции как в прокариотических, так и в эукариотических клетках-хозяевах.

[00328] Другие селектируемые гены можно использовать для амплификации гена, предназначенного для экспрессии. Амплификация представляет собой процесс, в котором гены, требуемые для выработки белка, необходимого для роста или клеточной выживаемости, многократно повторяются один за другим в пределах хромосом последовательных генераций рекомбинантных клеток. Примеры подходящих для клеток млекопитающих селектируемых маркеров включают гены дегидрофолатредуктазы (DHFR) и беспромоторной тимидинкиназы. Трансформанты клеток млекопитающих попадают под селекционное давление, когда только трансформанты однозначно приспособлены к выживанию благодаря присутствию в векторе селектируемого гена. Селекционное давление обусловлено культивированием трансформированных клеток в условиях, в которых концентрация селекционного вещества в среде значительно повышена, что приводит к амплификации как селектируемого гена, так и ДНК, которая кодирует другой ген, такой как антигенсвязывающий белок антитела, которое связывается с полипептидом ST2. В результате из амплифицированной ДНК синтезируется повышенное количество полипептида, такого как ST2-антигенсвязывающий белок.

[00329] Участок связывания рибосомы обычно необходим для инициации трансляции мРНК и представляет собой последовательность Шайна-Дальгарно (прокариоты) или последовательность Козака (эукариоты). Данный элемент обычно расположен в направлении 3' к промотору и в направлении 5' к кодирующей последовательности экспрессируемого полипептида. В определенных вариантах осуществления одна или более кодирующих

областей могут быть функционально связанными с внутренним участком связывания рибосомы (IRES), что делает возможной трансляцию двух открытых рамок считывания с одного РНК-транскрипта.

[00330] В некоторых случаях, например, если необходимо гликозилирование в экспрессионной системе эукариотической клетки-хозяина, можно оперировать разными пре- и пропоследовательностями для того, чтобы улучшить гликозилирование либо выход продукта. Например, можно внести изменения в участок расщепления пептидазой определенного сигнального пептида либо добавить пропоследовательности, которые также могут влиять на гликозилирование. Конечный белковый продукт может содержать в -1 позиции (по отношению к первой аминокислоте зрелого белка) одну или более дополнительных аминокислот, свойственных для экспрессии, которые могли оказаться не полностью удаленными. Например, конечный белковый продукт может содержать один или два аминокислотных остатка, обнаруживаемых в участке расщепления пептидазой, присоединенных к аминоконцу. Альтернативно, использование некоторых участков расщепления ферментами может привести к появлению слегка усеченной формы требуемого полипептида, в случае, если фермент делает надрез в такой области в пределах зрелого полипептида.

[00331] Экспрессионные и клонирующие векторы согласно изобретению обычно содержат промотор, который распознается организмом-хозяином и функционально связан с молекулой, кодирующей ST2-антигенсвязывающий белок. Промоторы являются нетранскрибируемыми последовательностями, расположенными выше (т.е., в направлении 5') стартового кодона структурного гена (обычно в пределах от примерно 100 до 1000 п.о.), которые управляют транскрипцией структурного гена. Традиционно промоторы объединяют в два класса: индуцибельные промоторы и конститутивные промоторы. Индуцибельные промоторы иницируют повышение уровня транскрипции из контролируемой ими ДНК в ответ на некоторые изменения условий культивирования, такие как наличие или отсутствие питательных веществ или изменение

температуры. Конститутивные промоторы, с другой стороны, постоянно транскрибируют ген, с которым они функционально связаны, при этом контроль генной экспрессии является слабым или отсутствует. Большое количество промоторов, распознаваемых потенциальными клетками-хозяевами, являются хорошо известными. Подходящий промотор функционально связывают с ДНК, кодирующей тяжелую цепь или легкую цепь, содержащую ST2-антигенсвязывающий белок согласно изобретению путем удаления промотора из исходной ДНК при помощи расщепления рестрикционными ферментами и вставки требуемой промоторной последовательности в вектор.

[00332] В данной области техники также известны промоторы, подходящие для применения с дрожжевыми организмами-хозяевами. Дрожжевые энхансеры предпочтительно используются с дрожжевыми промоторами. Промоторы, подходящие для использования в клетках-хозяевах млекопитающих, хорошо известны и включают, но не ограничиваются этим, те, которые получены из геномов вирусов, таких как вирус полиомы, вирус оспы кур, аденовирус (такой как аденовирус-2), вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус саркомы птиц, цитомегаловирус, ретровирусы, вирус гепатита В, и наиболее предпочтительно вирус обезьян 40 (SV40). Другие подходящие для млекопитающих промоторы включают гетерологичные промоторы для млекопитающих, например, промоторы теплового шока и промотор актина.

[00333] Дополнительные промоторы, которые могут представлять интерес, включают, но не ограничиваются этим: ранний промотор SV40 (Benoist and Chambon, 1981, *Nature* 290:304-310); промотор CMV (Thornsen et al., 1984, *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 81:659-663); промотор, находящийся в 3' длинном концевом повторе вируса саркомы Рауса (Yamamoto et al., 1980, *Cell* 22:787-797); промотор герпесной тимидинкиназы (Wagner et al., 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78:1444-1445); промотор и регуляторные последовательности из гена металлотионина (Prinster et al., 1982, *Nature* 296:39-42); и прокариотические промоторы, такие как промотор бета-лактамазы (Villa-Kamaroff et al., 1978, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 75:3727-3731); или tac-промотор (DeBoer et al., 1983, *Proc.*

Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80:21-25). Также интерес представляют следующие транскрипционные контрольные области животного происхождения, которые проявляют тканевую специфичность и использовались на трансгенных животных: контрольная область гена эластазы I, которая активна в панкреатических ациноцитах (Swift et al., 1984, *Cell* 38:639-646; Ornitz et al., 1986, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 50:399-409; MacDonald, 1987, *Hepatology* 7:425-515); контрольная область гена инсулина, которая активна в панкреатических бета-клетках (Hanahan, 1985, *Nature* 315:115-122); контрольная область гена иммуноглобулина, которая активна в лимфоцитах (Grosschedl et al., 1984, *Cell* 38:647-658; Adames et al., 1985, *Nature* 318:533-538; Alexander et al., 1987, *Mol. Cell. Biol.* 7:1436-1444); контрольная область вируса опухоли молочной железы мышей, которая активна в клетках тестикул, молочной железы, лимфоцитах и тучных клетках (Leder et al., 1986, *Cell* 45:485-495); контрольная область гена альбумина, которая активна в печени (Pinkert et al., 1987, *Genes and Devel.* 1 :268-276); контрольная область гена альфа-фетопротеина, которая активна в печени (Krumlauf et al., 1985, *Mol. Cell. Biol.* 5:1639-1648; Hammer et al., 1987, *Science* 253:53-58); контрольная область гена 1-антитрипсина, которая активна в печени (Kelsey et al., 1987, *Genes and Devel.* 1:161-171); контрольная область гена бета-глобина, которая активна в миелоидных клетках (Mogam et al., 1985, *Nature* 315:338-340; Kollias et al., 1986, *Cell* 46:89-94); контрольная область гена основного белка миелина, которая активна в олигодендроцитах головного мозга (Readhead et al., 1987, *Cell* 48:703-712); контрольная область гена легкой цепи-2 миозина, которая активна в скелетных мышцах (Sani, 1985, *Nature* 314:283-286); и контрольная область гена гонадотропного рилизинг-гормона, которая активна в гипоталамусе (Mason et al., 1986, *Science* 234:1372-1378).

[00334] Энхансерную последовательность можно вставить в вектор, чтобы усилить транскрипцию ДНК, кодирующей легкую цепь или тяжелую цепь, содержащую ST2-антигенсвязывающий белок по изобретению, высшими эукариотами. Энхансеры представляют собой

цис-действующие элементы ДНК, длиной, как правило, примерно 10-300 п.о., которые воздействуют на промотор так, чтобы усилить транскрипцию. Энхансеры относительно ориентационно и позиционно независимы и обнаруживаются как в 5', так и в 3' позициях относительно транскрипционной единицы. Известно несколько энхансерных последовательностей, доступных из генов животных (например, глобина, эластазы, альбумина, альфа-фетопротейна и инсулина). Однако, используются, как правило, энхансеры, полученные из вирусов. Известные в данной области техники энхансер SV40, энхансер раннего промотора цитомегаловируса, энхансер полиомы и энхансеры аденовирусов являются примерами энхансерных элементов для активации эукариотических промоторов. Хотя энхансер может находиться в векторе как в 5', так и в 3' положении относительно кодирующей последовательности, обычно он расположен в позиции 5' от промотора. В экспрессионный вектор можно включить последовательность, кодирующую соответствующую нативную или гетерологичную сигнальную последовательность (лидерную последовательность или сигнальный пептид) для того, чтобы стимулировать внеклеточную секрецию антител. Выбор сигнального пептида или лидера зависит от типа клеток-хозяев, в которых будут вырабатываться антитела, а гетерологичная сигнальная последовательность может заменить нативную сигнальную последовательность. Примеры функциональных в клетках-хозяевах млекопитающих сигнальных пептидов включают следующие: сигнальную последовательность для интерлейкина-7 (IL-7), описанную в патенте США № 4,965,195; сигнальную последовательность для рецептора интерлейкина-2, описанную в Cosman et al., 1984, *Nature* 312:768; сигнальный пептид рецептора интерлейкина-4, описанный в Европейском патенте № 0367 566; сигнальный пептид рецептора интерлейкина-1 типа I, описанный в патенте США № 4,968,607; сигнальный пептид рецептора интерлейкина-1 типа II, описанный в Европейском патенте № 0 460 846.

[00335] Вектор может содержать один или более элементов, которые способствуют экспрессии в случае, когда вектор интегрирован в геном клетки-хозяина. Примеры включают элемент

EASE (Aldrich et al. 2003 *Biotechnol Prog.* 19:1433-38) и участок прикрепления к ядерному матриксу (MAR - от англ. "matrix attachment region"). MAR опосредуют структурное упорядочение хроматина и могут защитить интегрированный вектор от эффекта "положения". Таким образом, MAR исключительно полезны в случае использования векторов для получения стабильных трансфектантов. В данной области техники известно множество природных и синтетических MAR-содержащих нуклеиновых кислот, описанных, например, в патентах США № 6,239,328; 7,326,567; 6,177,612; 6,388,066; 6,245,974; 7,259,010; 6,037,525; 7,422,874; 7,129,062.

[00336] Векторы экспрессии согласно изобретению можно конструировать на основе исходного вектора, такого как коммерчески доступный вектор. Такие векторы могут содержать или не содержать все необходимые фланкирующие последовательности. Если одна или более из описанных в данном описании фланкирующих последовательностей не присутствуют в векторе изначально, их можно получить отдельно и лигировать в вектор. Способы, используемые для получения любой из фланкирующих последовательностей, хорошо известны специалисту в данной области техники.

[00337] После того, как вектор был сконструирован, а молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая легкую цепь, тяжелую цепь или легкую цепь и тяжелую цепь, содержащие ST2-антигенсвязывающую последовательность, была вставлена в соответствующий участок вектора, полноценный вектор можно вносить в подходящую клетку-хозяина для амплификации и/или экспрессии полипептида. Трансформацию вектора экспрессии для ST2-антигенсвязывающего белка в выбранную клетку-хозяина можно осуществить при помощи широко известных методов, включая трансфекцию, инфицирование, совместное осаждение фосфата кальция, электропорацию, микроинъекцию, липофекцию, DEAE-декстран опосредованную трансфекцию или другие известные методы. Выбранный метод будет частично зависеть от типа используемой клетки-хозяина. Эти методы и другие подходящие методы хорошо известны специалисту в данной области техники и

приведены, например, в Sambrook *et al.*, 2001, *выше*.

[00338] Клетка-хозяин при культивировании в соответствующих условиях синтезирует ST2-антигенсвязывающий белок, который впоследствии можно изъять из культуральной среды (если клетка-хозяин секретирует в среду) либо прямо из продуцирующей его клетки-хозяина (если он не секретируется). Выбор подходящей клетки-хозяина зависит от различных факторов, таких как требуемые уровни экспрессии, полипептидные модификации, которые желательны или необходимы для активности (такой как гликозилирование или фосфорилирование) и легкости фолдинга в биологически активную молекулу. Клетка-хозяин может быть эукариотической или прокариотической.

[00339] Доступные в качестве организмов-хозяев для экспрессии клеточные линии млекопитающих хорошо известны в данной области техники и включают, но не ограничиваются этим, immortalized клеточные линии, доступные из Американской коллекции типовых культур (ATCC), и любые клеточные линии, используемые в известной в данной области экспрессионной системе, можно применять для получения рекомбинантных полипептидов согласно изобретению. В общем, клетки-хозяев трансформируют при помощи рекомбинантных векторов экспрессии, которые содержат ДНК, кодирующую требуемый полипептид антитела к ST2. Среди клеток-хозяев, которые можно применять в данных целях, находятся прокариоты, дрожжевые или высшие эукариотические клетки. Прокариоты включают грамотрицательные или грамположительные организмы, например, *E. coli* или бациллы. Высшие эукариотические клетки включают клетки насекомых и устойчивые клеточные линии, происходящие от млекопитающих. Примеры подходящих клеточных линий млекопитающих включают линию COS-7 клеток почек обезьян (ATCC CRL 1651) (Gluzman *et al.*, 1981, Cell 23:175), L-клетки, клетки 293, клетки C127, клетки 3T3 (ATCC CCL 163), клетки яичников китайского хомячка (CHO) или их производные, такие как Veggie CHO и родственные клеточные линии, которые растут в бессывороточных средах (Rasmussen *et al.*, 1998, Cytotechnology 28: 31), клетки HeLa, клеточные линии ВНК (ATCC CRL 10) и клеточную линию CVI/EBNA,

полученную из клеточной линии почек африканской зеленой мартышки CVI (ATCC CCL 70), как описано в McMahon *et al.*, 1991, EMBO J. 10: 2821, человеческие эмбриональные клетки почек, такие как 293, 293 EBNA или MSR 293, человеческие эпидермальные клетки A431, человеческие клетки Colo205, другие трансформированные клеточные линии приматов, нормальные диплоидные клетки, клеточные штаммы, полученные из *in vitro* культуры первичной ткани, первичные эксплантаты, HL-60, U937, НаК или клетки Юрката. В некоторых случаях клеточные линии млекопитающих, такие как, например, HepG2/3B, KB, NIH 3T3 или S49, можно использовать для экспрессии полипептида, когда полипептид необходимо использовать в различных методах сигнальной трансдукции или репортерных методах. Альтернативно, можно осуществлять выработку полипептида в низших эукариотах, таких как дрожжи, или в прокариотах, таких как бактерии. Подходящие виды дрожжей включают *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, штаммы *Kluyveromyces*, *Candida* или любые дрожжевые штаммы, способные экспрессировать гетерологичные полипептиды. Подходящие бактериальные штаммы включают *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* или любые бактериальные штаммы, способные экспрессировать гетерологичные полипептиды. Если полипептид получен из дрожжей или бактерий, может возникнуть необходимость модифицировать вырабатываемый ими полипептид, например, при помощи фосфорилирования или гликозилирования соответствующих участков, с целью получения функционального полипептида. Такие ковалентные присоединения можно осуществить, используя известные химические или ферментативные методы. Также полипептид можно получить, функционально связав выделенную нуклеиновую кислоту, являющуюся объектом изобретения, с подходящими контрольными последовательностями в одном или более векторе экспрессии насекомых и используя экспрессионную систему насекомых. Материалы и методы для экспрессионных систем на основе клеток бакуловирусов/насекомых коммерчески доступны в виде наборов, к примеру, от Invitrogen, Сан Диего, Калиф., США

(MaxBac® kit), а такие методы хорошо известны в данной области техники и описаны в Summers and Smith, Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No. 1555 (1987), и Luckow and Summers, *Bio/Technology* 6:47 (1988). Также можно применять бесклеточные трансляционные системы для получения полипептидов при помощи РНК, полученных из раскрытых в данном описании нуклеотидных конструкций. Подходящие клонирующие и экспрессионные векторы для применения в клетках-хозяевах бактерий, грибов, дрожжей и млекопитающих описаны в Pouwels et al. (*Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, New York, 1985). Клетка-хозяин, которая содержит выделенную нуклеиновую кислоту по изобретению, предпочтительно функционально связанную с по меньшей мере одной экспрессионной контрольной последовательностью, называется "рекомбинантной клеткой-хозяином".

[00340] В определенных вариантах осуществления клеточные линии могут быть выбраны путем определения, какие клеточные линии имеют высокие уровни экспрессии и постоянно вырабатывают антигенсвязывающие белки со свойствами связывания ST2. В другом варианте осуществления может быть выбрана клеточная линия из линии В-клеток, которая не вырабатывает собственных антител, но обладает способностью вырабатывать и секретировать гетерологичные антитела.

ST2-антигенсвязывающие белки, разрушающие клетки

[00341] В предпочтительных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок связывает ST2 и подавляет связывание IL-33, тем самым снижая IL-33-опосредованную передачу сигнала в экспрессирующих ST2 клетках. При этом В определенных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок связывает ST2 и нацелен на разрушение экспрессирующих ST2 клеток. Конечно, ST2-антигенсвязывающий белок может подавлять связывание IL-33 и быть нацеленным на разрушение ST2-клеток.

[00342] Разрушающие клетки ST2-антигенсвязывающие белки исключительно эффективны при лечении заболеваний, связанных со сверхэкспрессией ST2, например, воспалительных заболеваний или

экспрессирующих ST2 опухолей. Методы нацеливания на клетки антигенсвязывающих белков, например, антител, хорошо известны в данной области техники. Примеры вариантов реализации обсуждаются ниже.

Конъюгаты антитела с лекарственным средством

[00343] Варианты осуществления данного изобретения включают конъюгаты антитела с лекарственным веществом (ADC – от англ. "antibody drug conjugates"). В общем случае ADC содержит антитело, конъюгированное с химиотерапевтическим агентом, например, цитотоксическим агентом, цитостатическим агентом, токсином или радиоактивным агентом. Для конъюгации лекарственного средства с антителом можно использовать линкерную молекулу. В данной области техники известно множество линкеров и лекарственных средств, которые подходят для применения в ADC и могут быть использованы в осуществлении настоящего изобретения. (См. US20090028856; US2009/0274713; US2007/0031402; WO2005/084390; WO2009/099728; US5208020; US5416064; US5475092; 5585499; 6436931; 6372738; и 6340701, которые все включены в данное описание посредством ссылки).

Линкеры

[00344] В определенных вариантах осуществления ADC содержит линкер, состоящий из одного или более связующих компонентов. Примеры связующих компонентов включают 6-малеимидокапроил, малеимидопропаноил, валин-цитруллин, аланин-фенилаланин, п-аминобензилоксикарбонил и те, которые получают вследствие конъюгации со связующими реагентами, включая, но не ограничиваясь этим, N-сукцинимидил-4-(2-пиридилтио)пентаноат ("SPP"), N-сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат ("SMCC," также называемый в данном описании "MCC") и N-сукцинимидил(4-йодацетил)аминобензоат ("SIAB").

[00345] Линкеры могут быть "отщепляемыми" линкерами или "неотщепляемыми" линкерами (Ducry and Stump, *Bioconjugate Chem.* 2010, 21, 5-13; в полном объеме включенная в данное описание посредством ссылки). Отщепляемые линкеры сконструированы так, чтобы высвобождать лекарственное средство при воздействии определенных внешних факторов, например, при интернализации

клеткой-мишенью. Отщепляемые линкеры включают кислотолабильные линкеры, линкеры, чувствительные к протеазам, фотолабильные линкеры, диметилловые линкеры или дисульфидсодержащие линкеры. Неотщепляемые линкеры остаются ковалентно связанными с по меньшей мере одной аминокислотой антитела и лекарственным средством при интернализации и деградации внутри клетки-мишени. Примером неотщепляемого линкера является МСС.

Лекарственные средства

[00346] В определенных вариантах осуществления антитело конъюгировано с химиотерапевтическим агентом. Примеры химиотерапевтических агентов включают алкилирующие агенты, такие как тиотепа и циклофосфамид (CYTOXAN.TM.); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентифосфорамид и триметилломеламин; ацетогенины (в особенности буллатацин и буллатацинон); камптотецин (включая синтетические аналоги топотекана); бриостатин; каллистатин; СС-1065 (включая его адозелезиновые, карзелезиновые и бизелезиновые синтетические аналоги); криптофицины (в особенности криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги KW-2189 и СВІ-TMI); элеутеробин; панкреатистатин; саркодиктин; спонгистатин; азотистые иприты, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, меклоретамин, гидрохлорид оксида меклоретамина, мелфалан, новембихин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урацилиприт; нитромочевины, такие как кармустин, хлорозотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин, ранимустин; антибиотики, такие как энедииновые антибиотики (например, калихеамицин, в особенности калихеамицин гамма 1 и калихеамицин тета I, см., например, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994); динемидин, включая динемидин А, эсперамицин; а также неокарциностатиновый хромофор и родственные хромопротеинэнедиинового антибиотического хромофора), аклациномицины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины,

кактиномицин, карабицин, карминомицин, карцинофилин; хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин (включая морфолино-доксорубицин, цианоморфолино-доксорубицин, 2-пирролино-доксорубицин и дезоксидоксорубицин), эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, митомицины, микофеноловую кислоту, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиروмицин, пуромицин, квеламицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, циностатин, зорубицин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-FU); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, такие как анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидезоксиуридин, доксифлуридин, эноцитабин, флоксуридин, 5-FU; андрогены, такие как калустерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепитиостан, тестолактон; анти-адренальные вещества, такие как аминоклутетимид, митотан, трилостан; компенсатор фолиевой кислоты, такой как фролиниевая кислота; ацеглатон; гликозид альдофосфамида; аминоклевулиновая кислота; амсакрин; бестрабуцил; бизантрен; эдатраксат; дефофамин; деменколцин; диазиквон; эльфорнитин; ацетат эллиптиния; эпотилон; этоглюцид; нитрат галлия; гидроксимочевина; лентинан; лонидамин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и ансамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; PSK.RTM.; разоксан; ризоксин; сизофуран; спирогерманиум; тенуазоновая кислота; триазикивон; 2,2',2''-трихлортриэтиламин; трихотецены (в особенности, токсин Т-2, верракурин А, роридин А и ангуидин); уретан; виндезин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ara-C"); циклофосфамид; тиотепа; таксоиды, например, паклитаксел (TAXOL.TM., Bristol-Myers Squibb Oncology, Принстон, Нью-Йорк) и доксетаксел (TAXOTERE.RTM., Rhone-Poulenc Rorer, Энтони, Франция); хлорамбуцил; гемцитабин; 6-тиогуанин; меркаптопурин;

метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин и карбоплатин; винбластин; платина; этопозид (VP-16); ифосфамид; митомицин C; митоксантрон; винкристин; винорелбин; навелбин; новантрон; тенипозид; дауномицин; аминоптерин; кселода; ибандронат; CPT-11; ингибитор топоизомеразы RFS 2000; дифформетилорнитин (DMFO); ретиноевая кислота; капецитабин; и фармацевтические приемлемые соли, кислоты или производные любых вышеперечисленных соединений. Также в данное определение включены антигормональные агенты, которые регулируют или ингибируют гормональную активность в опухолях, такие как антиэстрогены, включая, например, тамоксифен, ралоксифен, ингибирующие ароматазу 4(5)-имидазолы, 4-гидрокситамоксифен, триоксифен, кеоксифен, LY117018, онапристон и торемифен (Fareston); и антиандрогены, такие как флутамид, нилутамид, бикалутамид, лейпролид и гoserелин; мiРНК и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любых вышеперечисленных соединений. Другие химиотерапевтические агенты, которые можно применять в рамках настоящего изобретения, раскрыты в публикации США № 20080171040 или публикации США 20080305044 и в полном объеме включены в данное описание посредством ссылки.

[00347] Предполагается, что антитело может быть конъюгировано с двумя или более разными химиотерапевтическими агентами, либо фармацевтическая композиция может содержать смесь антител, где компоненты антител являются одинаковыми, за исключением того, что они конъюгированы с разными химиотерапевтическими агентами. Такие варианты осуществления могут быть целесообразны при нацеливании на множественные биологические процессы в клетке-мишени.

[00348] В предпочтительных вариантах осуществления ADC содержит антитело, конъюгированное с одной или более молекулами майтанзиноида, которые являются митотическими ингибиторами, которые действуют путем подавления полимеризации тубулина. Майтанзиноиды, включая разные модификации, описаны в патентах США № 3896111; 4151042; 4137230; 4248870; 4256746; 4260608; 4265814; 4294757; 4307016; 4308268; 4309428; 4313946; 4315929;

4317821; 4322348; 4331598; 4361650; 4364866; 4424219; 4450254; 4362663; 4371533; и WO 2009/099728. Лекарственные средства на основе майтанзиноидов могут быть выделены из природных источников, получены при помощи рекомбинантных технологий либо изготовлены синтетически. Примеры майтанзиноидов включают С-19-дехлор (патент США № 4256746), С-20-гидроксид (или С-20-деметил) +/- С-19-дехлор (патенты США № 4307016 и 4361650), С-20-деметокси (или С-20-ацилокси (-OCOR), +/- дехлор (патент США № 4294757), С-9-SH (патент США № 4,424,219), С-14-алкоксиметил (деметокси/CH₂OR) (патент США № 4,331,598), С-14-гидроксиметил или ацилоксиметил (CH₂OH или CH₂OAc) (патент США № 4,450,254), С-15-гидроксид/ацилокси (патент США № 4,364,866), С-15-метокси (патенты США № 4,313,946 и 4,315,929), С-18-N-деметил (патенты США № 4,362,663 и 4,322,348) и 4,5-дезоксид (патент США № 4,371,533).

[00349] В зависимости от требуемого типа связи в качестве позиций для связывания можно использовать различные позиции в соединениях майтанзиноидов. Например, для образования эфирной связи хорошо подходят позиция С-3, содержащая гидроксильную группу, позиция С-14, модифицированная гидрозиметилем, позиция С-15, модифицированная гидроксильной группой, и позиция С-20, содержащая гидроксильную группу (патенты США № 5208020, RE39151 и 6913748; патентные публикации США № 20060167245 и 20070037972, и WO 2009099728).

[00350] Предпочтительные майтанзиноиды включают известные в данной области техники соединения DM1, DM3 и DM4 (патентные публикации США № 2009030924 и 20050276812, включенные в данное описание посредством ссылки).

[00351] Содержащие майтанзиноиды ADC, способы получения таких ADC и их терапевтические применения описаны в патентах США № 5208020 и 5416064, патентной публикации США № 20050276812 и WO 2009099728 (которые все включены в данное описание посредством ссылки). Линкеры, подходящие для получения содержащих майтанзиноиды ADC, известны в данной области техники (патент США № 5208020 и патентные публикации США № 2005016993 и 20090274713; которые все включены в данное описание посредством

ссылки). Содержащие майтанзиноиды ADC, содержащие линкеры SMCC, можно получить согласно описанию, приведенному в патентной публикации США № 2005/0276812.

Антитела с усиленной эффекторной функцией

[00352] Одной из функций Fc-фрагмента антитела является взаимодействие с иммунной системой при связывании антителом своей мишени. Это называется "эффекторной функцией". Данное взаимодействие приводит к антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC), антителозависимому клеточному фагоцитозу (ADCP) и/или комплементзависимой цитотоксичности (CDC). ADCC и ADCP опосредуются через связывание Fc с Fc-рецепторами на поверхности клеток иммунной системы. CDC опосредуется через связывание Fc с белками системы комплемента, например, C1q.

[00353] Подклассы IgG различаются по своей способности опосредовать эффекторные функции. Например, IgG1 намного превосходит IgG2 и IgG4 в опосредовании ADCC и CDC. Следовательно, в вариантах осуществления, которые нацелены на разрушении экспрессирующей ST2 клетки, предпочтительным будет IgG1-антитело к ST2.

[00354] Эффекторную функцию антитела можно повысить или понизить посредством введения одной или более мутаций в Fc. Варианты осуществления данного изобретения включают антигенсвязывающие белки, например, антитела, содержащие Fc, сконструированные так, чтобы повышать эффекторную функцию (США 7,317,091 и Strohl, *Curr. Opin. Biotech.*, 20:685-691, 2009; которые обе в полном объеме включены в данное описание посредством ссылки). Примеры IgG1 Fc молекул, обладающих повышенной эффекторной функцией, включают (на основе системы нумерации Kabat) те, которые содержат следующие замены: S239D/I332E

[00355] S239D/A330S/I332E

[00356] S239D/A330L/I332E

[00357] S298A/D333A/K334A

[00358] P247I/A339D

[00359] P247I/A339Q

- [00360] D280H/K290S
- [00361] D280H/K290S/S298D
- [00362] D280H/K290S/S298V
- [00363] F243L/R292P/Y300L
- [00364] F243L/R292P/Y300L/P396L
- [00365] F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L
- [00366] G236A/S239D/I332E
- [00367] K326A/E333A
- [00368] K326W/E333S
- [00369] K290E/S298G/T299A
- [00370] K290N/S298G/T299A
- [00371] K290E/S298G/T299A/K326E
- [00372] K290N/S298G/T299A/K326E

[00373] Дополнительные варианты осуществления данного изобретения включают антигенсвязывающие белки, например, антитела, содержащие Fc, сконструированные так, чтобы понижать эффекторную функцию. Примеры Fc молекул, обладающих пониженной эффекторной функцией, включают (на основе системы нумерации Kabat) те, которые содержат следующие замены:

- [00374] N297A (IgG1)
- [00375] L234A/L235A (IgG1)
- [00376] V234A/G237A (IgG2)
- [00377] L235A/G237A/E318A (IgG4)
- [00378] H268Q/V309L/A330S/A331S (IgG2)
- [00379] C220S/C226S/C229S/P238S (IgG1)
- [00380] C226S/C229S/E233P/L234V/L235A (IgG1)
- [00381] L234F/L235E/P331S (IgG1)
- [00382] S267E/L328F (IgG1)

[00383] Другим способом повышения эффекторной функции IgG Fc-содержащих белков является снижение фукозилирования Fc. Удаление коровой фукозы из 2-антенарных олигосахаридов комплексного типа, присоединенных к Fc, значительно повышает эффекторную функцию ADCC без изменения в связывании антигена или эффекторной функции CDC. Известно несколько способов снижения либо прекращения фукозилирования Fc-содержащих молекул, например, антител. Они включают рекомбинантную

экспрессию в определенных клеточных линиях млекопитающих, включая клеточную линию с генным нокаутом FUT8, вариантную CHO-линию Lec13, клеточную линию гибридомы крыс YB2/0, клеточную линию, содержащую малую интерферирующую РНК, специфическую против гена FUT8, и клеточную линию, совместно экспрессирующую β -1,4-*N*-ацетилглюкозаминилтрансферазу III и Гольджи α -маннозидазу II. Альтернативно, Fc-содержащие молекулы могут экспрессироваться в не принадлежащей млекопитающему клетке, такой как растительная клетка, дрожжевая или прокариотическая клетка, например, *E. coli*. Следовательно, в определенных вариантах осуществления изобретения композиция содержит антитело, например, Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, Ab5, Ab6, Ab7, Ab8, Ab9, Ab10 или Ab11, характеризующееся сниженным фукозилированием или отсутствием фукозилирования.

Фармацевтические композиции

[00384] В некоторых вариантах осуществления в изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество одного из множества антигенсвязывающих белков согласно изобретению совместно с фармацевтически эффективными разбавителями, носителями, растворителями, эмульгаторами, консервантами и/или адъювантами. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок является антителом. Фармацевтические композиции согласно изобретению, включают, но не ограничиваются этим, жидкие, замороженные и лиофилизированные композиции.

[00385] Предпочтительно, вещества для составления лекарственных препаратов нетоксичны для пациента при применяемых дозировках и концентрациях. В конкретных вариантах осуществления предложены фармацевтические композиции, содержащие терапевтически эффективное количество ST2-антигенсвязывающего белка, например, ST2-связывающего антитела.

[00386] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция может содержать вещества для составления лекарственных препаратов для модификации, поддержания или сохранения, например, уровня pH, осмолярности,

вязкости, прозрачности, цвета, изотоничности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, поглощения или проницаемости композиции. В таких вариантах осуществления подходящие вещества для составления лекарственных препаратов включают, но не ограничиваются этим, аминокислоты (такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин, пролин или лизин); противомикробные вещества; антиоксиданты (такие как аскорбиновая кислота, сульфит натрия или гидросульфит натрия); буферы (такие как борат, бикарбонат, Трис-HCl, цитраты, фосфаты или другие органические кислоты); объемообразующие агенты (например, маннит или глицин); хелатирующие агенты (такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA)); комплексообразующие агенты (такие как кофеин, поливинилпирролидон, бета-циклодекстрин или гидроксипропил-бета-циклодекстрин), наполнители; моносахариды; дисахариды; и другие углеводы (такие как глюкоза, манноза или декстрины); белки (такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины); окрашивающие, ароматизирующие и разбавляющие агенты; эмульгаторы; гидрофильные полимеры (такие как поливинилпирролидон); низкомолекулярные полипептиды; солеобразующие противоионы (такие как натрий); консерванты (такие как бензалконийхлорид, бензойная кислота, салициловая кислота, тимерозал, фенолитовый спирт, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, сорбиновая кислота или перекись водорода); растворители (такие как глицерин, полипропиленгликоль или полиэтиленгликоль); сахарные спирты (такие как маннит или сорбит); суспендирующие агенты; поверхностно-активные вещества или смачивающие агенты (такие как плуроники, ПЭГ, эфиры сорбитана, полисорбаты, такие как полисорбат 20, полисорбат, тритон, трометамин, лецитин, холестерин или тилоксапал); агенты, повышающие стабильность (такие как сахароза или сорбит); агенты, повышающие тоничность (такие как галогениды щелочных металлов, предпочтительно, хлорид натрия или калия или маннит-сорбит); средства доставки; разбавители; вспомогательные вещества и/или фармацевтические адъюванты. См. REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18"

Edition, (A. R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company.

[00387] В определенных вариантах осуществления оптимальная фармацевтическая композиция определяется специалистом в данной области техники в зависимости от, например, выбранного способа введения, формы доставки и требуемой дозировки. См., например, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, выше. В определенных вариантах осуществления такие композиции могут оказывать влияние на физическое состояние, стабильность, скорость *in vivo* высвобождения и скорость *in vivo* выведения антигенсвязывающих белков согласно изобретению. В определенных вариантах осуществления первичный наполнитель или носитель в фармацевтической композиции может быть водного или неводного происхождения. Например, подходящим наполнителем или носителем может быть вода для инъекции, физиологический раствор или искусственная цереброспинальная жидкость, по возможности, с добавлением других веществ, часто употребляемых в композициях для парентерального введения. Дополнительными примерами носителей являются нейтральный буферный физиологический раствор или физиологический раствор, смешанный с сывороточным альбумином. В конкретных вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат Трис-буфер с уровнем pH примерно 7,0-8,5 или ацетатный буфер с pH примерно 4,0-5,5, и могут дополнительно содержать сорбит или его подходящий заменитель. В определенных вариантах осуществления изобретения композиции, содержащие ST2-антигенсвязывающий белок, можно подготовить для хранения путем смешивания выбранной композиции, имеющей необходимую степень очистки, с произвольными агентами для составления лекарственного препарата (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, выше) в виде лиофилизированной таблетки или водного раствора. Кроме того, В определенных вариантах осуществления продукт, содержащий ST2-антигенсвязывающий белок, можно составить в виде лиофилизата, используя соответствующие вспомогательные вещества, такие как сахароза.

[00388] Для фармацевтических композиций согласно изобретению можно избрать парентеральный способ доставки.

Альтернативно, для композиций можно избрать ингаляционный способ или доставку через пищеварительный тракт, например, пероральную. Получение таких фармацевтически приемлемых композиций известно в данной области техники. Компоненты для составления лекарственного препарата предпочтительно содержатся в концентрациях, которые являются приемлемыми для данного места введения. В определенных вариантах осуществления используют буферы для поддержания в композиции физиологического уровня pH или незначительно меньшего pH, как правило, в интервале от примерно 5 до примерно 8.

[00389] В случаях, когда предполагается парентеральное введение, терапевтические композиции для применения в данном изобретении могут предоставляться в виде апиrogenного, парентерально приемлемого водного раствора, содержащего необходимый ST2-антигенсвязывающий белок в фармацевтически приемлемом носителе. Особенно подходящим носителем для парентеральной инъекции является стерильная дистиллированная вода, в которой ST2-антигенсвязывающий белок составляют в виде стерильного изотонического раствора с добавлением соответствующих консервантов. В определенных вариантах осуществления получение состава может включать смешивание необходимой молекулы с агентами, такими как инъектируемые микросферы, биоразрушаемые частицы, полимерные соединения (такие как полимолочная кислота или полигликолевая кислота), гранулы или липосомы, которые могут обеспечить контролируемое или длительное высвобождение продукта, который затем можно доставить при помощи инъекции веществ замедленного всасывания. В определенных вариантах осуществления можно также применять гиалуроновую кислоту, которая способствует длительному нахождению в системе циркуляции. В определенных вариантах осуществления для внесения необходимого антигенсвязывающего белка можно использовать имплантируемые устройства для доставки лекарственных средств.

[00390] Фармацевтические композиции согласно изобретению можно составлять для введения путем ингаляции. В этих вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающие белки предпочтительно

составляют в виде сухого ингалируемого порошка. В конкретных вариантах осуществления ингаляционные растворы, содержащие ST2-антигенсвязывающий белок, также можно составлять вместе с пропеллентом для аэрозольной доставки. В определенных вариантах осуществления растворы могут распыляться. Ингаляционное введение и способы составления дополнительно описаны в международной патентной заявке № PCT/US94/001875, которая включена в данное описание посредством ссылки и описывает ингаляционное введение химически модифицированных белков.

[00391] Также предполагается, что составы можно вводить перорально. ST2-антигенсвязывающие белки, которые вводят таким способом, можно составлять с или без носителей, обычно используемых при получении твердых дозированных форм, таких как таблетки и капсулы. В определенных вариантах осуществления капсулу можно изготовить таким образом, чтобы высвобождение активной части состава происходило в том месте желудочно-кишечного тракта, где максимизирована биологическая доступность и минимизирована пресистемная деградация. Для облегчения абсорбции ST2-антигенсвязывающего белка можно добавлять дополнительные агенты. Также можно применять разбавители, ароматизаторы, легкоплавкие воски, растительные масла, лубриканты, суспендирующие агенты, вещества для улучшения распадаемости таблеток и связывающие вещества.

[00392] Наличие дополнительных фармацевтических композиций очевидно для специалистов в данной области техники, включая составы, содержащие ST2-антигенсвязывающие белки в виде, который обеспечивает длительную или контролируемую доставку. Способы составления большого количества средств длительной или контролируемой доставки, таких как липосомные носители, биоразлагаемые микрочастицы или пористые гранулы и инъекция веществ замедленного всасывания, также известны специалистам в данной области техники. См., например, международную патентную заявку № PCT/US93/00829, которая включена в данное описание посредством ссылки и описывает контролируемое высвобождение пористых полимерных микрочастиц для доставки фармацевтических композиций. Препараты длительного высвобождения могут включать

полупроницаемые полимерные матрицы в виде формованных изделий, например, пленок или микрокапсул. Матрицы с длительным высвобождением могут содержать сложные полиэфиры, гидрогели, полилактиды (что раскрыто в патенте США № 3,773,919 и публикации Европейской патентной заявки № EP 058481, которые включены в данное описание посредством ссылки), сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамата (Sidman et al., 1983, Biopolymers 2:547-556), поли-(2-гидроксиэтилметакрилат) (Langer et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277 и Langer, 1982, Chem. Tech. 12:98-105), этиленвинилацетат (Langer et al., 1981, supra) или поли-D(-)-3-гидроксимасляную кислоту (публикация Европейской патентной заявки № EP 133,988). Композиции с длительным высвобождением могут также содержать липосомы, которые можно получить одним из нескольких известных в данной области техники способов. См., например, Eppstein et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82:3688-3692; публикации Европейских патентных заявок № EP 036,676; EP 088,046 и EP 143,949, включенные посредством ссылки.

[00393] Фармацевтические композиции для *in vivo* введения обычно получают в виде стерильных препаратов. Стерилизацию можно осуществить путем фильтрации через стерильные фильтрующие мембраны. В случае, если композиция лиофилизирована, стерилизацию с применением указанного метода можно провести как до, так и после лиофилизации и восстановления. Композиции для парентерального введения можно хранить в лиофилизированной форме или в растворе. Парентеральные композиции обычно помещают в контейнер, имеющий стерильное входное отверстие, например, пакет для внутривенного раствора или емкость с пробкой, через которую вводится гиподермальная игла для инъекции.

[00394] Аспекты данного изобретения включают составы ST2-антигенсвязывающего белка, которые сами служат буфером и которые можно применять в качестве фармацевтических композиций, как описано в международной патентной заявке WO 06138181A2 (PCT/US2006/022599), которая в полном объеме включена в данное описание посредством ссылки.

[00395] Как обсуждалось выше, в определенных вариантах

осуществления предложены композиции, содержащие ST2-антигенсвязывающие белки, в частности, фармацевтические композиции, содержащие ST2-антигенсвязывающие белки, которые помимо ST2-антигенсвязывающего белка содержат одно или более вспомогательных веществ, таких как те, что описаны в иллюстративных целях в данном разделе и в других частях текста. В связи с этим, вспомогательные вещества можно использовать в изобретении для разных целей, таких как регулирование физических, химических или биологических свойств составов, например регулирование вязкости, и/или в процессах согласно изобретению для того, чтобы улучшить эффективность и/или стабилизировать такие составы или процессы в отношении деградации и порчи вследствие, к примеру, воздействий, которые могут иметь место во время производства, перевозки, хранения, предварительного приготовления, введения и так далее.

[00396] Доступно большое количество работ по стабилизации белка и используемым в связи с этим методам и веществам для составления препаратов, таких как Arakawa et al., "Solvent interactions in pharmaceutical formulations," Pharm Res. 8(3): 285-91 (1991); Kendrick et al., "Physical stabilization of proteins in aqueous solution," в: RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE, Carpenter and Manning, eds. Pharmaceutical Biotechnology. 13: 61-84 (2002), и Randolph et al., "Surfactant-protein interactions," Pharm Biotechnol. 13: 159-75 (2002), которые все в полном объеме включены в данное описание посредством ссылки, в частности, в разделах, относящихся к вспомогательным веществам и соответствующим процессам для получения белковых составов согласно настоящему изобретению, которые сами служат буфером, в особенности, к белковым фармацевтическим продуктам и процессам для применения в ветеринарии и/или медицине человека.

[00397] Согласно некоторым вариантам осуществления изобретения можно использовать соли для того, чтобы, например, регулировать ионную силу и/или изотоничность состава и/или улучшить растворимость и/или физическую стабильность белка либо другого ингредиента композиции согласно изобретению.

[00398] Как хорошо известно, ионы могут стабилизировать нативное состояние белков посредством связывания с заряженными остатками на поверхности белка и посредством экранирования заряженных и полярных групп на белке и уменьшения силы их электростатического взаимодействия, притяжения и отталкивания. Также ионы могут стабилизировать денатурированное состояние белка, в частности, посредством связывания с денатурированными пептидными связями ($--CONH$) белка. Более того, ионное взаимодействие с заряженными и полярными группами на белке также может уменьшить внутримолекулярное электростатическое взаимодействие и, тем самым, предотвратить или снизить агрегацию пептида и нерастворимость.

[00399] Разновидности ионов существенно различаются по своему воздействию на белки. Было создано большое число классификаций для ионов и их воздействия на белки, которые можно использовать при составлении фармацевтических композиций согласно изобретению. Одним из примеров является ряд Гофмейстера, в котором ионные и полярные неионные растворы располагаются в соответствии со своим воздействием на конформационную стабильность белков в растворе. Стабилизирующие растворы называются "космотропными". Дестабилизирующие растворы называются "хаотропными". Космотропы обычно используют при высоких концентрациях (например, >1 -молярного сульфата аммония) для преципитации белков из раствора ("высаливание"). Хаотропы обычно используют для денатурации и/или растворения белков ("всаливание"). Относительная эффективность ионов при "всаливании" и "высаливании" определяет их положение в ряде Гофмейстера.

[00400] Согласно различным вариантам осуществления изобретения в составах, содержащих ST2-антигенсвязывающий белок, можно применять свободные аминокислоты в качестве объемообразующих агентов, стабилизаторов и антиоксидантов, а также для других стандартных применений. Лизин, пролин, серин и аланин можно использовать для стабилизации белков в составах. Глицин подходит для применения в лиофилизации для того, чтобы гарантировать правильную структуру и свойства таблеток. Аргинин

можно применять для подавления агрегации белка, как в жидких, так и в лиофилизированных составах. Метионин подходит в качестве антиоксиданта.

[00401] Полиолы включают сахара, например, манит, цукрозу и сорбит, и многоатомные спирты, такие как, к примеру, глицерин и пропиленгликоль, и, в целях обсуждения в данном описании, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и родственные соединения. Полиолы являются космотропными. Они являются приемлемыми стабилизирующими агентами как в жидких, так и в лиофилизированных составах, для защиты белка от физических и химических процессов деградации. Также полиолы применимы для регулирования тоничности составов.

[00402] Среди полиолов, применяемых в избранных вариантах осуществления, можно назвать манит, который обычно используют для гарантии структурной стабильности таблетки в лиофилизированных составах. Он обеспечивает структурную стабильность таблетки. Как правило, его используют вместе с лиопротектантом, например, сахарозой. Сорбит и сахароза являются одними из предпочтительных агентов для регулирования тоничности и в качестве стабилизаторов для защиты при замораживании-размораживании во время транспортировки либо при получении больших объемов препаратов во время процесса производства. Восстановительные сахара (которые содержат альдегидные либо кетоновые группы), такие как глюкоза и лактоза, могут гликировать поверхностные остатки лизина и аргинина. Следовательно, в общем случае они не являются предпочтительными полиолами для применения согласно изобретению. В дополнение, сахара, которые образуют такие реактивные соединения, такие как сахароза, которая в кислотных условиях гидролизует до фруктозы и глюкозы, и, следовательно, стимулирует гликирование, также не являются в данном отношении предпочтительными полиолами согласно изобретению. ПЭГ применим для стабилизации белков и в качестве криопротектанта, и также может быть в данном отношении применен в изобретении.

[00403] Варианты осуществления составов, содержащих ST2-антигенсвязывающие белки, дополнительно включают поверхностно-

активные вещества. Белковые молекулы могут адсорбироваться на поверхностях и денатурировать с последующей агрегацией на поверхностях раздела воздух-жидкость, твердое тело-жидкость и жидкость-жидкость. В общем случае эти эффекты обратно пропорциональны концентрации белка. Эти вредные взаимодействия, как правило, обратно пропорциональны концентрации белка и обычно усиливаются при физическом воздействии, таком как то, что возникает во время транспортировки и эксплуатации продукта.

[00404] Поверхностно-активные вещества обычно используют для предотвращения, минимизации или снижения физической адсорбции. Полезные в этом отношении поверхностно-активные вещества согласно изобретению включают полисорбат 20, полисорбат 80, другие эфиры жирных кислот полиэтоксилатов сорбитана и полоксамер 188.

[00405] Поверхностно-активные вещества обычно используют для контроля конформационной стабильности белка. В этой связи использование поверхностно-активных веществ является белок-специфическим, так как любое заданное поверхностно-активное вещество, как правило, стабилизирует одни белки и дестабилизирует другие.

[00406] Полисорбаты восприимчивы к окислительной деградации, и часто, в том виде, в котором они поставляются, содержат достаточное количество пероксидов для того, чтобы привести к окислению боковых цепей белковых остатков, в особенности, метионина. Следовательно, применять полисорбаты следует осторожно, и использовать при самой низкой эффективной концентрации. В данном отношении полисорбаты отображают общее правило, что вспомогательные вещества следует применять при самых низких эффективных концентрациях.

[00407] Варианты осуществления составов, содержащих ST2-антигенсвязывающие белки, дополнительно включают один или более антиоксидантов. Вредный эффект от окисления белков в фармацевтических составах можно в некоторой степени предотвратить посредством поддержания надлежащего уровня атмосферного кислорода и температуры и посредством предотвращения воздействия света. Вспомогательные антиоксиданты

можно также использовать для предотвращения окислительной дегградации белков. Среди полезных в данном отношении антиоксидантов можно назвать восстановительные агенты, акцепторы кислорода/свободных радикалов и хелатирующие агенты. Антиоксиданты для применения в терапевтических белковых составах согласно изобретению предпочтительно являются водорастворимыми и сохраняют свою активность на протяжении срока хранения продукта. В этом отношении EDTA является предпочтительным антиоксидантом согласно изобретению.

[00408] Антиоксиданты могут повредить белки. Например, восстановительные агенты, такие как, в частности, глутатион, могут разрушать внутримолекулярные дисульфидные связи. Следовательно, антиоксиданты для применения в изобретении выбирают так, чтобы, среди прочего, устранить или существенно снизить возможность повреждения ими белков в составах.

[00409] Составы согласно изобретению могут содержать ионы металлов, которые являются кофакторами белка и необходимы для образования белковых координационных комплексов, такие как цинк, который необходим для получения определенных инсулиновых суспензий. Ионы металлов также могут подавлять некоторые процессы, в ходе которых происходит дегградация белка. При этом ионы металлов также катализируют физические и химические процессы, в ходе которых происходит дегградация белка.

[00410] Ионы магния (10–120 мМ) можно применять для подавления изомеризации аспарагиновой кислоты до изоаспарагиновой кислоты. Ионы Ca^{+2} (до 100 мМ) могут увеличивать стабильность дезоксирибонуклеазы человека. Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} , при этом, могут дестабилизировать рчДНКазу. Аналогично, Ca^{+2} и Sr^{+2} могут стабилизировать фактор VIII, но он может быть дестабилизирован Mg^{+2} , Mn^{+2} и Zn^{+2} , Cu^{+2} и Fe^{+2} , а его агрегация может быть усилена ионами Al^{+3} .

[00411] Варианты осуществления составов, содержащих ST2-антигенсвязывающие белки, дополнительно включают один или более консервантов. Консерванты необходимы при разработке парентеральных составов, рассчитанных на многократное дозирование, которое подразумевает неоднократное использование

из одного и того же контейнера. Их первостепенной функцией является подавление микробного роста и гарантия стерильности продукта на протяжении срока хранения или термина использования лекарственного продукта. Обычно используемые консерванты включают бензиловый спирт, фенол и м-крезол. Хотя консерванты имеют долгую историю совместного применения с низкомолекулярными парентеральными составами, разработка белковых составов, которые содержат консерванты, может быть затруднена. Консерванты практически всегда оказывают дестабилизирующий эффект (агрегации) на белки, и это стало основным фактором, ограничивающим их применение в составах, рассчитанных на многократное дозирование. В настоящее время большинство белковых лекарственных средств составляют только для однократного применения. Однако, в тех случаях, когда возможны составы, рассчитанные на многократное дозирование, они имеют дополнительное преимущество, состоящее в удобстве для пациента, и повышенную конкурентоспособность на рынке продаж. Хорошим примером является человеческий гормон роста (hGH), для которого разработка содержащих консерванты составов привела к коммерческой реализации более удобного многократного шприца-ручки. По меньшей мере четыре таких устройства-ручки, содержащих составы hGH с консервантами, доступны на данный момент на рынке продаж. Нордитропин (жидкость, Novo Nordisk), нутропин AQ (жидкость, Genentech) и генотропин (лиофилизированный, с двухкамерным картриджем, Pharmacia & Upjohn) содержат фенол, в то время как соматроп (Eli Lilly) составлен с добавлением м-крезола.

[00412] При составлении и разработке содержащих консерванты дозированных форм нужно принимать во внимание некоторые аспекты. Эффективная концентрация консерванта в лекарственном продукте должна быть оптимизированной. Это требует исследования заданного консерванта в дозированной форме в диапазоне концентраций, который обеспечивает противомикробное действие без снижения стабильности белка.

[00413] Следует ожидать, что разработка жидких составов, содержащих консерванты, является более трудной задачей, чем в

случае лиофилизированных составов. Сублимированные продукты можно лиофилизировать без консервантов и восстановить в содержащем консервант разбавителе перед использованием. Это снижает время контакта консерванта и белка, что существенно минимизирует связанный с таким контактом риск дестабилизации. В случае жидких составов эффективность консерванта и стабильность должны поддерживаться на протяжении всего срока хранения продукта (приблизительно от 18 до 24 месяцев). Важным моментом является то, что консервант должен проявлять эффективность в конечном составе, содержащем активное лекарственное средство и все вспомогательные компоненты.

[00414] В общем случае составы ST2-антигенсвязывающих белков должны разрабатываться с учетом определенных способов и методов применения, для определенных применяемых дозировок и частоты применения, для определенных видов лечения определенных заболеваний и в определенных диапазонах биологической доступности и устойчивости среди прочего. Следовательно, составы согласно изобретению можно разработать для доставки любым подходящим способом, включая, но не ограничиваясь этим, пероральный, внутриушной, офтальмологический, ректальный и вагинальный, а также парентеральными способами, включая внутривенную и внутриартериальную инъекцию, внутримышечную инъекцию и подкожную инъекцию.

[00415] После составления фармацевтическую композицию можно хранить в стерильных флаконах в виде раствора, суспензии, геля, эмульсии, в твердом состоянии, в кристаллическом состоянии или в виде дегидратированного либо лиофилизированного порошка. Такие составы можно хранить как в готовой для применения форме, так и в форме (например, лиофилизированной), которая восстанавливается перед применением. Также в изобретении предложены наборы для получения одноразовой дозы препарата. Наборы согласно изобретению могут содержать первый контейнер, содержащий сухой белок, и второй контейнер, содержащий водный состав. В определенных вариантах осуществления данного изобретения предложены наборы, содержащие мультикамерные предварительно наполненные шприцы (например,

шприцы с жидкостью или шприцы с лиофилизатом).

[00416] Применяемое терапевтически эффективное количество фармацевтической композиции, содержащей ST2-антигенсвязывающий белок, зависит, например, от терапевтического контекста и обстоятельств. Для специалиста в данной области техники понятно, что подходящие уровни дозирования для лечения частично зависят от доставляемой молекулы, в роли которой используется ST2-антигенсвязывающий белок, способа применения и параметров (масса тела, площадь поверхности тела и размер органов) и/или состояния (возраста и общего здоровья) пациента. В определенных вариантах осуществления лечащий врач может титровать дозировку и модифицировать способ применения для получения оптимального терапевтического эффекта. Типичный диапазон дозировок составляет от примерно 0,1 мкг/кг вплоть до примерно 30 мг/кг или более в зависимости от вышеупомянутых факторов. В конкретных вариантах осуществления диапазон дозировок может составлять от 1,0 мкг/кг вплоть до примерно 20 мг/кг, в необязательно от 10 мкг/кг вплоть до примерно 10 мг/кг или от 100 мкг/кг вплоть до примерно 5 мг/кг.

[00417] Применение терапевтически эффективного количества ST2-антигенсвязывающего белка предпочтительно приводит к снижению степени тяжести симптомов заболевания, увеличению частоты или продолжительности периодов отсутствия симптомов заболевания или предотвращению появления патологий или инвалидности вследствие поражения болезнью.

[00418] Фармацевтические композиции можно вводить при помощи медицинских инструментов. Примеры медицинских инструментов для введения фармацевтических композиций описаны в патентах США № 4,475,196; 4,439,196; 4,447,224; 4,447, 233; 4,486,194; 4,487,603; 4,596,556; 4,790,824; 4,941,880; 5,064,413; 5,312,335; 5,312,335; 5,383,851; и 5,399,163, которые все включены в данное описание посредством ссылки.

Методы диагностики или лечения заболеваний и нарушений, связанных с ST2

[00419] ST2-антигенсвязывающие белки согласно изобретению применимы, в частности, для детекции ST2 в биологическом

образце. В определенных вариантах осуществления биологический образец, полученный от пациента, приводят в контакт с ST2-антигенсвязывающим белком. Затем детектируют связывание ST2-антигенсвязывающего белка с ST2, чтобы определить наличие относительного количества ST2 в образце. Такие методы могут быть полезны для диагностики или выявления пациентов, которые восприимчивы к лечению ST2-антигенсвязывающим белком.

[00420] В определенных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок по изобретению применяют для диагностики, детекции или лечения аутоиммунных или воспалительных заболеваний. При лечении аутоиммунных или воспалительных заболеваний ST2-антигенсвязывающий белок может быть нацелен на экспрессирующие ST2 клетки иммунной системы для их разрушения и/или может блокировать взаимодействие ST2 и IL-33.

[00421] Заболевания, которые связаны и опосредованной IL-33 передачей сигнала особенно восприимчивы к лечению одним или более ST2-антигенсвязывающими белками, раскрытыми в данном описании. Такие заболевания включают, но не ограничиваются этим, воспаление, аутоиммунное заболевание, паранеопластические аутоиммунные заболевания, воспаление хрящевой ткани, фиброзирующие болезни и/или разрушение костной ткани, артрит, ревматоидный артрит, ювенильный артрит, ювенильный ревматоидный артрит, пауциартикулярный ювенильный ревматоидный артрит, полиартикулярный ювенильный ревматоидный артрит, ювенильный ревматоидный артрит с системным началом, ювенильный анкилозирующий спондилит, ювенильный энтеропатический артрит, ювенильный реактивный артрит, ювенильный синдром Рейтера, SEA-синдром (синдром серонегативной энтезопатии и артропатии), ювенильный дерматомиозит, ювенильный псориазический артрит, ювенильную склеродермию, ювенильную системную красную волчанку, ювенильный васкулит, пауциартикулярный ревматоидный артрит, полиартикулярный ревматоидный артрит, ревматоидный артрит с системным началом, анкилозирующий спондилит, энтеропатический артрит, реактивный артрит, синдром Рейтера, SEA-синдром (синдром серонегативной энтезопатии и артропатии),

дерматомиозит, псориаз, псориатический артрит, склеродермию, системную красную волчанку, васкулит, миелит, полиомиелит, дерматомиозит, узелковый полиартериит, гранулематоз Вегенера, артериит, ревматическую полимиалгию, саркоидоз, склеродерму, склероз, первичный склероз желчных протоков, склерозирующий холангит, синдром Шегрена, псориаз, пятнистый псориаз, каплевидный псориаз, псориаз складок, пустулезный псориаз, эритродермический псориаз, дерматит, atopический дерматит, атеросклероз, волчанку, болезнь Стилла, системную красную волчанку (SLF), миастению гравис, воспалительное заболевание кишечника (IBD), болезнь Крона, язвенный колит, глютенную болезнь, множественный склероз (MS), астму, COPD, риносинусит, риносинусит с полипами, эозинофильный эзофагит, эозинофильный бронхит, болезнь Гийена-Барре, сахарный диабет типа I, тиреоидит (например, болезнь Грейвса), болезнь Аддисона, феномен Рейно, аутоиммунный гепатит, хроническая БТПХ (GVHD), отторжение при трансплантации, повреждение почек и тому подобное.

[00422] В предпочтительных вариантах осуществления аутоиммунным или воспалительным заболеванием является астма, хроническое обструктивное заболевание легких (COPD), легочный фиброз, сепсис и травмы, ВИЧ-инфекция, системная красная волчанка, воспалительное заболевание кишечника, ревматоидный артрит, склероз, гранулематоз Вегенера, болезнь Бехчета, сердечно-сосудистое заболевание, риносинусит, назальный полипоз и эозинофильный бронхит.

[00423] В определенных вариантах осуществления ST2-антигенсвязывающий белок по изобретению применяют для диагностики, детекции или лечения рака или опухолевого заболевания. При лечении рака или опухолевого заболевания ST2-антигенсвязывающий белок может быть нацелен на экспрессирующие ST2 клетки для их разрушения и/или может блокировать взаимодействие ST2 и IL-33, тем самым снижая опосредованную IL-33 передачу сигнала. Например, высокая экспрессия растворимого ST2 связана с повышением выживаемости среди пациентов с раком молочной железы. (Prechtel et al, *Lab Invest* (2001) 81:159-165)

Так как растворимый ST2 связывает и блокирует опосредованную IL-33 передачу сигнала, предполагается, что ST2-антигенсвязывающие белки, которые блокируют опосредованную IL-33 передачу сигнала, окажутся эффективными, способствуя повышению выживаемости среди пациентов с раком молочной железы. Рак или опухолевые заболевания, которые можно диагностировать, детектировать или лечить при помощи ST2-антигенсвязывающего белка, включают, но не ограничиваются этим, солидные опухоли в целом, рак легких, рак яичников, рак молочной железы, рак простаты, рак эндометрия, рак почек, рак пищевода, рак поджелудочной железы, плоскоклеточную карциному, увеальную меланому, рак шейки матки, колоректальный рак, рак мочевого пузыря, мозга, поджелудочной железы, головы, шеи, печени, лейкемию, лимфому и болезнь Ходжкина, множественную миелому, меланому, рак желудочно-кишечного тракта, астроцитому, рак желудка и аденокарциному легкого.

[00424] Антигенсвязывающие белки можно использовать для подавления роста опухолей, прогрессирования и/или метастаза. Такое подавление можно отслеживать при помощи различных методов. Например, подавление может привести к снижению размера опухоли и/или снижению метаболической активности внутри опухоли. Оба эти параметра можно определить, например, при помощи МРТ- или ПЭТ-сканирования. Также подавление можно отслеживать по биопсии, для того чтобы установить уровень некроза, гибели опухолевых клеток и уровня васкуляризации внутри опухоли. Степень метастаза можно отслеживать при помощи известных методов.

ПРИМЕРЫ

[00425] Следующие примеры, практические и теоретические, приведены для того, чтобы проиллюстрировать конкретные Варианты осуществления или отличительные признаки настоящего изобретения, но при этом не ограничивают его объема.

ПРИМЕР 1: Антитела к ST2 эффективны в мышинной модели астмы

[00426] Данный пример демонстрирует, что введение антител, которые связывают ST2 и подавляют IL-33-опосредованную передачу сигнала, эффективно в животной модели воспалительного

заболевания, т.е., астмы. Нейтрализующее мышинное ST2 mAb (ST2-суррогатное mAb) подавляло активность вводимого экзогенно IL-33 *in vivo*. Мышам интраназально вводили 200 нг рекомбинантного мышинного IL-33 через два часа после внутривенной инъекции 100 мкг анти-ST2 mAb. На следующий день определяли концентрации IL-5 в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (BALF) при помощи ELISA. Контрольные концентрации IL-5 получали из BALF мышей, обработанных солевым раствором перед введением солевого раствора. Максимальные концентрации IL-5 в BALF были получены для изотипических контрольных обработанных Ig мышей, которым вводили IL-33. По сравнению с изотипической контрольной обработкой Ig, обработка ST2 mAb привела к существенному подавлению IL-33-индуцированного IL-5 в BALF обоих мышинных штаммов BALB/c и C57BL/6 (ФИГ.1).

[00427] ST2-суррогатное mAb проявило эффективность в индуцированной тараканьим аллергеном (CRA) модели астмы, при этом в BALF мышей, обработанных антителами к ST2, содержалось существенно меньше эозинофилов, чем у изотипических контрольных обработанных Ig мышей. Мышам BALB/c вводили 100 мкг CRA на 1, 3, 6, 8, 10 и 13 дни. Мышам делали инъекцию 250 мкг либо анти-ST2 mAb, либо изотипического контрольного Ig на 0, 7 и 13 дни, причем на 13 день инъекцию антител проводили перед последним интраназальным введением CRA. На 14 день мышей анестезировали и проводили лаваж легких. Клеточные популяции BALF оценивали количественно, а обработка анти-ST2 mAb привела к существенно меньшему общему количеству клеток BALF, при этом эозинофилы составляли незначительную часть клеточной популяции (ФИГ.2).

ПРИМЕР 2: Получения антител к ST2 с использованием платформы Xenomouse®

[00428] Исследования генерации полностью человеческих антител, направленных против человеческого ST2, проводили, используя технологию XENOMOUSE® (патенты США № 6,114,598; 6,162,963; 6,833,268; 7,049,426; 7,064,244, которые в полном объеме включены в данное описание посредством ссылки; Green *et al.*, 1994, *Nature Genetics* 7:13-21; Mendez *et al.*, 1997, *Nature Genetics* 15:146-156; Green and Jakobovitis, 1998, *J. Ex. Med.*

188:483-495, Kellermann and Green, 2002, *Current Opinion in Biotechnology*, 13:593-597).

[00429] Иммунизацию XMG2K, XMG4K и XMG4KL XENOMOUSE® животных проводили как полипептидом, содержащим внеклеточный домен человеческого ST2, слитый с Fc-доменом человеческого антитела, так и человеческим слитым белком ST2-Fc, комплексированным с человеческим IL-33. Подходящее количество иммуногена (т.е., десять мкг/мышь растворимого ST2) использовали для первичной иммунизации XENOMOUSE® животных согласно методам, описанным в патентной заявке США, серийный № 08/759,620, зарегистрированной 3 декабря 1996 г., и международных патентных заявках № WO 98/24893, опубликованной 11 июня 1998 г., и WO 00/76310, опубликованной 21 декабря 2000 г., описания которых включены в данное описание посредством ссылки. После первичной иммунизации проводили последовательные бустерные иммунизации иммуногена (пять мкг/мышь растворимого ST2 или комплекса ST2/IL33) согласно схеме и на протяжении срока, необходимого, чтобы индуцировать требуемый титр антител к ST2 у мышей. Титры определяли подходящим методом, например, ELISA или при помощи сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FAC).

[00430] Определяли животных с подходящими титрами, и лимфоциты, полученные из дренирующих лимфатических узлов и, при необходимости, объединенные для каждой группы. Лимфоциты выделяли из лимфоидной ткани при помощи размалывания в подходящей среде (например, среде Игла, модифицированной по способу Дульбекко; DMEM; предоставляемой Invitrogen, Карлсбад, Калифорния) для высвобождения клеток из тканей и суспендировали в DMEM. В-клетки отбирали и/или обогащали подходящим методом и проводили слияние с подходящими партнерами по слиянию, например, клетками P3X63Ag8.653 несекреторной миеломы (Американская коллекция типовых культур CRL 1580; Kearney et al, *J. Immunol.* 123, 1979, 1548-1550), при помощи известных в данной области техники методов.

[00431] В одном методе слияния лимфоциты смешивали с клетками-партнерами по слиянию в соотношении 1:4. Клеточную

смесь аккуратно пеллетировали посредством центрифугирования при 400×g на протяжении 4 минут, супернатант сцеживали, и клеточную смесь аккуратно перемешивали (например, при помощи 1 мл пипетки). Слияние индуцировали ПЭГ/ДМСО (полиэтиленгликоль/диметилсульфоксид; предоставляемый Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури; 1 мл на миллион лимфоцитов). ПЭГ/ДМСО добавляли медленно, аккуратно встряхивали через одну минуту с последующим перемешиванием на протяжении одной минуты. Затем через 2 минуты добавляли IDMEM (DMEM без глутамина; 2 мл на миллион В-клеток), аккуратно встряхивая, с последующим дополнительным добавлением IDMEM (8 мл на миллион В-клеток) через 3 минуты.

[00432] Слитые клетки аккуратно пеллетировали (400×g, 6 минут) и ресуспендировали в 20 мл селекционной среды (DMEM, содержащий азасерин и гипоксантин [НА] и другие вспомогательные вещества в случае необходимости) на миллион В-клеток. Клетки инкубировали на протяжении 20–30 минут при 37°C и затем ресуспендировали в 200 мл селекционной среды и культивировали от трех до четырех дней в колбах T175 перед высеванием в 96-луночные планшеты.

[00433] Клетки распределяли по 96-луночным планшетах, используя стандартные методы для максимизирования клональности полученных в результате колоний. После нескольких дней культивирования супернатанты собирали и проводили скрининговое исследование. Скрининг гибридных супернатантов, полученных из мышей, иммунизированных комплексом ST2-Fc/IL33, проводили методом на основании ELISA, используя 96-луночные полистироловые планшеты ELISA, пассивно покрытые на ночь при 4°C 0,5 мкг/мл ST2-Flag/his, комплексированным к человеческому IL-33. Для определения специфического связывания ST2 проводили второй ELISA-скрининг, используя 96-луночные полистироловые планшеты, пассивно покрытые на ночь при 4°C 10 мкг/мл нейтравидина. Затем планшеты отмывали и загружали 0,5 мкг/мл биотинилированного человеческого IL33. При помощи данного ELISA-скрининга идентифицировали более 1200 анти-ST2

специфических связывающих элементов.

[00434] Скрининг гибридомных супернатантов, полученных из мышей, иммунизированных растворимым ST2-Fc, для обнаружения ST2-антигенспецифических антител осуществляли методом флуоресцентного микрообъемного исследования (FMAT), проводя скрининг относительно рекомбинантных клеток HEK293T, временно трансфицированных полноразмерным человеческим ST2, и контрскрининг относительно ложнотрансфицированных клеток HEK293T. Вкратце, клетки высевали в 384-луночные планшеты FMAT в объеме 40 мкл/лунку с плотностью 6000 ST2-положительных клеток/лунку и 14000 ложнотрансфицированных ST2-отрицательных клеток/лунку. Затем добавляли гибридомный супернатант и оставляли для связывания на 1 час при комнатной температуре с последующей отмывкой и вторичной детекцией с использованием вторичного антитела к человеческому Fc-Cy5. При помощи данного FMAT-скрининга идентифицировали более 2200 анти-ST2 специфических связывающих элементов из гибридом, полученных из мышей, иммунизированных внеклеточным доменом ST2.

[00435] Затем данную комбинированную панель из 3400 анти-ST2 специфических гибридомных супернатантов дополнительно исследовали на предмет способности функционально противодействовать передаче сигнала ST2, применяя анализ высвобождения цитокина интерферон- γ . Вкратце, очищенные человеческие мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) или очищенные человеческие NK-клетки высевали в 96-луночные планшеты для тканевого культивирования и стимулировали человеческим IL-33 и IL-12, индуцируя высвобождение интерферона-гамма в супернатант. Проводили количественную оценку уровней интерферона-гамма в супернатанте, и обнаружили, что они прямо коррелируют с IL-33/ST2-зависимой передачей сигнала. При помощи данного биоанализа образцы гибридом исследовали на предмет способности блокировать высвобождение интерферона-гамма посредством блокирования сигнального пути ST2. При помощи данного скрининга идентифицировали 578 гибридомных супернатантов, полученных путем иммунизации ST2-Fc,

которые подавляют высвобождение интерферона-гамма более чем на 80%. В дополнение, идентифицировали 505 гибридных супернатантов, полученных вследствие иммунизации комплексом ST2Fc/IL-33, которые подавляют высвобождение интерферона-гамма более чем на 70%.

[00436] Затем данную панель из 1083 гибридных супернатантов дополнительно исследовали на предмет перекрестно-реактивного связывания с ST2 мышей и яванских макак, на предмет градации относительной аффинности при помощи ограниченного метода ELISA для антигенов, на предмет биохимического блокирования рецепторов/лигандов при помощи ELISA, и на предмет эндогенного связывания при помощи FACS, используя клеточные линии. Данные, полученные в этих вторичных исследованиях, использовали для разделения большой панели на 2 группы по 40 гибридных линий, которые затем субклонировали, наращивали их клеточную массу и очищали.

ПРИМЕР 3: Определение K_D

[00437] В данном примере определяли аффинность ST2-связывающих антител. Проводили оценку методом поверхностного плазмонного резонанса, используя оптический биосенсор Proteon XPR-36, оборудованный сенсорным чипом GLC (Bio-Rad). Биосенсорный анализ проводили при 25°C в буферной системе HBS-EP+ (1x) (10 mM HEPES, pH 7,4, 150 mM NaCl, 3,0 mM EDTA, 0,05% сурфактанта P20, GE Healthcare). До инъекции все реагенты хранили при 8°C.

[00438] Козлиный античеловеческий IgG (специфический к Fc-фрагменту, Jackson ImmunoResearch) иммобилизовали на поверхности сенсора в вертикальном направлении путем стандартного аминного сопряжения на линиях 1-6 (~4000 к.е.), а затем блокировали этаноламином. Антитела иммобилизовали (~40-100 к.е.) в вертикальном направлении на линиях 1-5. Вертикальную линию 6 оставляли пустой и использовали в качестве контроля. Данные получали для групп, содержащих по 15 антител (три подгруппы по 5).

[00439] Реагенты ST2 (человека или яванского макака)

доводили в рабочем буфере до концентрации 25 нМ, а затем 3-кратно разбавляли до 309 пМ. При помощи единичной инъекции в горизонтальном направлении доставляли серии молекул ST2, содержащие их полную концентрацию, используя буфер для того, чтобы укомплектовать ряд из шести образцов и обеспечить наличие поточного двойного контроля для ответных данных. Скорости ассоциации (3 мин) и диссоциации (30 мин) фиксировали при скорости потока 100 мкл/мин.

[00440] Поверхность восстанавливали при скорости потока 100 мкл/мин, используя 10 мМ глицина (pH 1,5, 30 мкл).

[00441] Данные корректировали относительно базовой линии, отбирали необходимые, выстраивали в ряд, вычитали контроль (interspot), а затем описывали 1:1 моделью связывания при помощи ProteOn Manager (версия 2.1.2.05). Результаты приведены в Таблице 4.

Таблица 4

Антитело	Аналит	ka	kd	KD (пМ)	Антитело	Аналит	ka	kd	KD (пМ)
Ab12	ST2 яв. мак.	2,50E+06	5,60E-05	22,5	Ab12	ST2 чел.	2,35E+06	3,41E-05	14,5
Ab13	ST2 яв. мак.	1,40E+06	1,80E-04	128,0	Ab13	ST2 чел.	1,30E+06	9,12E-05	70,3
Ab14	ST2 яв. мак.	3,57E+06	1,59E-03	445,0	Ab14	ST2 чел.	4,22E+06	2,57E-05	6,1
Ab15	ST2 яв. мак.	2,67E+06	6,23E-05	23,4	Ab15	ST2 чел.	1,83E+06	5,38E-05	29,3
Ab16	ST2 яв. мак.	2,61E+06	2,18E-04	83,7	Ab16	ST2 чел.	1,28E+06	1,47E-04	115,0
Ab17	ST2 яв. мак.	3,38E+06	1,43E-04	42,2	Ab17	ST2 чел.	2,86E+06	1,04E-04	36,4
Ab18	ST2 яв. мак.	3,16E+06	1,44E-04	45,7	Ab18	ST2 чел.	2,67E+06	1,19E-04	44,5
Ab19	ST2 яв. мак.	3,07E+06	1,59E-04	51,8	Ab19	ST2 чел.	2,81E+06	1,25E-04	44,5
Ab20	ST2 яв. мак.	2,61E+06	6,64E-05	25,5	Ab20	ST2 чел.	2,41E+06	5,68E-05	23,5
Ab21	ST2 яв. мак.	3,21E+06	4,92E-05	15,3	Ab21	ST2 чел.	2,83E+06	3,07E-05	10,8

Ab22	ST2 яв. мак.	2,87E+ 06	5,33E- 05	18,6	Ab22	ST2 чел.	2,50E+06	4,05E-05	16,2
Ab23	ST2 яв. мак.	3,29E+ 06	3,23E- 04	98,2	Ab23	ST2 чел.	2,70E+06	2,24E-04	83,1
Ab24	ST2 яв. мак.	2,03E+ 06	1,54E- 04	75,9	Ab24	ST2 чел.	2,89E+06	1,50E-04	51,7
Ab25	ST2 яв. мак.	6,42E+ 06	5,75E- 04	89,6	Ab25	ST2 чел.	4,00E+06	5,44E-04	136,0
Ab26	ST2 яв. мак.	5,65E+ 06	3,08E- 04	54,5	Ab26	ST2 чел.	5,22E+06	2,97E-04	56,9
Ab27	ST2 яв. мак.	1,63E+ 06	3,75E- 04	230,0	Ab27	ST2 чел.	1,35E+06	3,12E-04	230,0
Ab28	ST2 яв. мак.	2,97E+ 06	1,35E- 05	4,5	Ab28	ST2 чел.	2,37E+06	1,98E-05	8,4
Ab29	ST2 яв. мак.	3,97E+ 05	9,45E- 05	238,0	Ab29	ST2 чел.	3,76E+05	8,96E-05	238,0
Ab30	ST2 яв. мак.	3,09E+ 06	3,17E- 05	10,2	Ab30	ST2 чел.	2,79E+06	2,71E-05	9,7
Ab31	ST2 яв. мак.	1,07E+ 06	2,08E- 04	194,0	Ab31	ST2 чел.	8,78E+05	2,43E-04	277,0
Ab32	ST2 яв. мак.	4,81E+ 06	2,69E- 04	55,8	Ab32	ST2 чел.	4,37E+06	2,63E-04	60,2
Ab33	ST2 яв. мак.	4,26E+ 06	3,31E- 04	77,6	Ab33	ST2 чел.	4,04E+06	3,41E-04	84,4
Ab34	ST2 яв. мак.	2,78E+ 06	4,60E- 05	16,5	Ab34	ST2 чел.	2,61E+06	3,19E-05	12,3
Ab35	ST2 яв. мак.	9,76E+ 05	1,00E- 04	103,0	Ab35	ST2 чел.	8,17E+05	1,15E-04	141,0
Ab36	ST2 яв. мак.	414000 0	0,00027 8	67,1	Ab36	ST2 чел.	4,12E+06	2,80E-04	68,1

[0442] Аффинность дополнительных антител определяли, используя незначительно измененный протокол для плазмонного резонанса. Оценку антител Ab1, Ab2, Ab3 и Ab4 при помощи поверхностного плазмонного резонанса проводили при 25°C, используя измерительный прибор Biacore 3000 (Biacore International AB, Уппсала, Швеция), оборудованный сенсорным чипом CM5. Специфические к Fcγ захватывающие антитела ковалентно иммобилизовали в двух проточных ячейках на чипе CM4, используя стандартную реакцию аминного сопряжения с HBS-EP (10

мМ HEPES, pH 7,4, 150 мМ NaCl, 3 мМ EDTA, 0,005% сурфактанта P20, GE Healthcare) в качестве рабочего буфера. Вкратце, каждую проточную ячейку активировали 1:1 (об/об) смесью из 0,1 М NHS и 0,4 М EDC. Козлиный античеловеческий IgG AffiniPure, специфическое к Fcγ-фрагменту антитело (Jackson ImmunoResearch Inc., Вест Гров, Пенсильвания), иммобилизовали при 30 мкг/мл в 10 мМ ацетате натрия, pH 5,0, с заданным уровнем в 3000 к.е. на двух проточных ячейках. Поверхности с остаточной активностью дезактивировали при помощи инъекции 1 М этаноламина. Затем рабочий буфер меняли на HBS-EP + 0,1 мг/мл BSA на все оставшиеся этапы.

[00443] Все антитела готовили в рабочем буфере в тройном экземпляре, 3-кратно разбавляли и инъецировали таким образом, чтобы трехминутная инъекция при 10 мкл/мин через испытательную проточную ячейку приводила к появлению приблизительно 75-90 единиц ответа антител, захваченных на поверхности испытательной проточной ячейки. На поверхности контрольной проточной ячейки захвата антител не происходило. Затем ST2 человека или яванского макака при различных концентрациях (200 нМ - 0,0914 нМ) вместе с пустым буфером проводили через две проточных ячейки. Использовали скорость потока 50 мкл/мин и двухминутную фазу ассоциации, за которой следовала четырехминутная фаза диссоциации. После каждого цикла поверхности восстанавливали 50 мкл инъекцией 10 мМ глицина, pH 1,5. Затем свежие антитела иммобилизовали на поверхности испытательной проточной ячейки, чтобы подготовить к следующему циклу. Отдельный длительный эксперимент по диссоциации (60 мин) проводили в трех экземплярах при концентрации в 200 нМ.

[00444] Данные дважды корректировали, вычитая сначала контрольный поверхностный ответ, чтобы исключить изменение объемного коэффициента преломления, а затем вычитая усредненный ответ контрольного буфера, чтобы исключить систематические артефакты для экспериментальных проточных ячеек. Данные по ST2 обрабатывали и описывали в общем случае 1:1 моделью взаимодействия с локальным R_{max} при помощи BIA evaluation Software v 4.1. (Biacore International AB, Уппсала, Швеция).

Определяли константы скорости ассоциации (k_a) и диссоциации (k_d), и использовали эти данные для расчета равновесной константы диссоциации (K_D). Константы скорости диссоциации и равновесные константы диссоциации для Ab1, Ab2, Ab3 и Ab4 приведены в Таблице 5.

Таблица 5

Антитело	ST2	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (пМ)
Ab1	Человека	1,43E+06	1,11E-04	77,7
Ab1	Макака	1,69E+06	1,97E-04	117
Ab2	Человека	3,33E+05	1,13E-05	33,9
Ab2	Макака	3,60E+05	1,16E-05	32,2
Ab3	Человека	4,00E+05	9,50E-05	238
Ab3	Макака	6,74E+05	8,55E-05	127
Ab4	Человека	2,35E+06	7,06E-04	301
Ab4	Макака	2,50E+06	1,29E-03	516

ПРИМЕР 4: pH-чувствительное связывание антител

[00445] Терапевтические антитела, которые при низких значениях pH связываются со сниженной аффинностью со своими мишенями, могут иметь усиленные ФК свойства, которые позволяют осуществлять их доставку менее часто либо в более низких дозировках. (Nat Biotechnol. 2010 28(11):1203-7 T. Igawa et al Antibody recycling by engineered pH-dependent antigen binding improves the duration of antigen neutralization). Это происходит вследствие высвобождения мишени антителом при низком уровне pH лизосомы с последующей деградацией мишени и возвращением в цикл антитела.

[00446] Проводили биосенсорный анализ pH-чувствительного связывания антител Ab1, Ab2, Ab3 и Ab4 при помощи Biacore 4000. Установка была аналогичной таковой в Примере 3, в котором проводили определение K_D для этих антител, за исключением того, что данные соответствовали двойной инъекции единичной концентрации в 2,46 нМ антитела α -ST2. Фиксировали скорость

ассоциации (5 мин) при pH 7,4 и диссоциации (10 мин) при pH 5,5 и 7,4 при скорости потока в 30 мкл/мин. Данные с учетом вычитенного контроля описывали 1:1 моделью при помощи Scrubber. Некоторые из антител демонстрировали намного более высокие скорости диссоциации при более низком уровне pH, как показано в Таблице 6.

Таблица 6

Антитело	pH	Расчетная k_d (1/с) *	Кратность изменения pH 7,4/pH 5,5 k_d
Ab1	7,4	0,000134	88,1
Ab1	5,5	0,0118	
Ab2	7,4	0,0000298	8,0
Ab2	5,5	0,000238	
Ab3	7,4	0,0000273	2,9
Ab3	5,5	0,0000791	
Ab4	7,4	0,000632	16,9
Ab4	5,5	0,0107	

ПРИМЕР 5: Перекрестное конкурирование антител

[00447] Проведение экспериментов по конкурированию является стандартным способом характеристики эпитопов. Антитела, которые конкурируют друг с другом, можно считать такими, которые связывают один и тот же участок на мишени. В этом примере описан способ определения конкурирования за связывание ST2, и приведены результаты, полученные согласно данному способу при его применении к описанным в данном описании антителам.

[00448] Эксперименты по сортировке можно проводить различными способами, а применяемый метод может оказывать влияние на результаты анализа. Стандартным для данного метода является то, что ST2 обычно связывается одним контрольным антителом, а зондируется другим. В случае если контрольное антитело предотвращает связывание зондирующего антитела, считается, что антитела принадлежат одному сорту. Важен

порядок, в котором применяют антитела. Если антитело А применяется в качестве контрольного антитела и блокирует связывание антитела В, то обратное не всегда справедливо: антитело В, применяемое в качестве контрольного антитела, не обязательно будет блокировать антитело А. Существует много факторов, которые играют роль в данном случае: связывание антителом может вызывать конформационные изменения мишени, которые предотвращают связывание вторым антителом, либо эпитопы, которые перекрываются, но не полностью экранируют друг друга, могут оставлять возможность высокоаффинного взаимодействия с мишенью для второго антитела, что приводит к связыванию. В общем случае, если конкурентное связывание наблюдается при любом порядке, считается, что антитела принадлежат одному сорту, и если оба антитела могут блокировать друг друга, то существует вероятность того, что эпитопы перекрываются в более полной мере.

[00449] В данном Примере использовали модификацию мультиплексного метода сортировки, описанного Jia, et al (J. Immunological Methods, 288 (2004) 91-98). Использовали растворимый ST2-FLAG His. Для меченных разным кодом покрытых стрептавидином гранул Luminex (Luminex, #L100-L1XX-01, XX определяет код гранулы) проводили инкубацию в 100 мкл раствора, содержащего 6 пг/гранула биотинилированных моновалентных мышиных античеловеческих захватывающих антител IgG (BD Pharmingen, #555785), на протяжении 1 часа при комнатной температуре в темноте, затем отмывали 3× PBSA - фосфатно-солевым буфером (PBS) плюс 1% бычий сывороточный альбумин (BSA). Гранулы, несущие разные метки, отдельно инкубировали с 100 мкл 1:10 раствора антител к ST2 (покрывающие антитела) на протяжении 1 часа, а затем отмывали. Гранулы собирали, затем распределяли в 96-луночном фильтровальном планшете (Millipore, #MSBVN1250). В лунки до половины добавляли 100 мкл 2 мкг/мл ST2, а в оставшуюся половину добавляли буфер, и инкубировали на протяжении 1 часа, а затем отмывали. 100 мкл 1:10 раствора антител к ST2 (детекторные антитела) добавляли в одну лунку с

ST2 и одну лунку без ST2, инкубировали на протяжении 1 часа, а затем отмывали. В качестве отрицательного контроля использовали нерелевантный человеческий IgG (Jackson, #009-000-003), а также условие, соответствующее отсутствию антител (контроль). В каждую лунку добавляли 20 мкл PE-конъюгированного моновалентного мышинного античеловеческого IgG (BD Pharmingen, #555787), и инкубировали на протяжении 1 часа, а затем отмывали. Гранулы ресуспендировали в 75 мкл PBSA и при помощи установки BioPlex (BioRad) получали по меньшей мере 100 сигналов/код.

[00450] Среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) пары антител в отсутствие ST2 отнимали от сигнала соответствующей реакции с участием ST2. Для пары антител, для которых принимается, что они связываются одновременно, и соответственно, принадлежат разным сортам, величина реакции должна отвечать двум критериям: 1) величины должны быть в 2 раза больше, чем для покрывающего антитела, спаренного с самим собой, нерелевантным или контрольным антителом, в зависимости от того, какая из этих трех величин является наибольшей, и 2) величины должны быть больше, чем сигнал от детекторного антитела, которое связано с гранулой, покрытой нерелевантными или контрольными антителами. Было обнаружено как минимум три сорта антител, как показано в Таблице 7, приведенной ниже.

Таблица 7

Сорт	Антитело		Сорт	Антитело
Сорт 1	Ab23		Сорт 2	Ab9
	Ab17			Ab10
	Ab24			Ab11
	Ab25		Сорт 3	Ab29
	Ab12			
	Ab36			
	Ab14			
	Ab18			
	Ab19			

Ab20
Ab33
Ab34
Ab1
Ab7
Ab3
Ab15
Ab16
Ab27
Ab5
Ab2
Ab8
Ab13
Ab30
Ab35
Ab28

ПРИМЕР 6: Анализ блокирования IL-33

[00451] Исследовали механизм действия антител к ST2 при помощи двух AlphaScreens. Эти два метода применяли в комбинации для того, чтобы определить, могут ли антитела подавлять связывание IL-33 с ST2, или наоборот, могут ли антитела специфически блокировать связывание корцепторов ST2 и AcP и в то же время не препятствовать связыванию IL-33 с ST2. AlphaScreen является аббревиатурой Amplified Luminescent Proximity Homogenous Assay screen (усиленный люминесцентный гомогенный анализ).

[00452] В первом исследовании оценивали способность антител блокировать связывание между IL-33 и ST2. В данном анализе определяли способность антител к ST2 блокировать связывание биотинилированного человеческого IL-33 (спаренного со стрептавидиновой донорной гранулой) с 6-гистидин-меченным человеческим ST2 (спаренным с Ni-хелатной акцепторной гранулой). AlphaScreen-анализ IL-33/ST2 проводили, используя 40 мкл реакции в 96-луночном планшете с половинным объемом лунок

(Perkin Elmer). Буфер для анализа, который использовали для обоих AlphaScreens, содержал 40 мМ HEPES (pH=7,4), 1 мМ CaCl₂, 0,1% BSA, 0,05% Твин-20 и 100 мМ NaCl. Каждая лунка для анализа содержала 0,3 нМ биотинилированного человеческого IL-33, 0,3 нМ человеческого ST2-FH (FH является сокращением от FLAG- и 6×Гистидин-меток), 10 мкг/мл покрытых стрептавидином донорных гранул (Perkin Elmer, Уолтем, Массачусетс), 10 мкг/мл покрытых Ni-хелатом акцепторных гранул (Perkin Elmer) и 12,5 мкг/мл антител к ST2. После добавления всех компонентов анализа планшеты инкубировали на протяжении ночи в темноте при комнатной температуре. На следующий день планшеты считывали на мультиридере 2103 Envision (Perkin Elmer). Лазерное возбуждение донорных гранул при 680 нм использовали для генерации активного кислорода, который может инициировать люминесцентный/флуоресцентный каскад в акцепторных гранулах, которые находятся в непосредственной близости вследствие взаимодействия сопряженных с гранулой белков, что приводит к испусканию света, регистрируемому при 570 нм.

[00453] Во втором исследовании оценивали способность антител подавлять IL-33-опосредованное связывание ST2 с ко-рецептором АсР. В данном анализе определяли способность антител к ST2 блокировать IL-33-опосредованное связывание биотинилированного человеческого ST2-Fc (спаренного со стрептавидиновой донорной гранулой) с меченным 6×гистидином человеческим АсР (спаренным с Ni-хелатной акцепторной гранулой). AlphaScreen-анализ ST2/АсР проводили в 8 мкл реакциях в 384-луночном планшете (optiplate, Perkin Elmer). Каждая лунка для анализа содержала 5 нМ человеческого IL-33, 5 нМ биотинилированного человеческого ST2-Fc, 5 нМ человеческого АсР-FH, 10 мкг/мл покрытых стрептавидином донорных гранул, 10 мкг/мл покрытых Ni-хелатом акцепторных гранул и 12,5 мкг/мл антител к ST2. После добавления всех компонентов анализа планшеты инкубировали на протяжении ночи в темноте при комнатной температуре. На следующий день планшеты считывали на мультиридере 2103 Envision (Perkin Elmer), используя те же

параметры, которые приведены выше для первого исследования.

[00454] Результаты двух AlphaScreens приведены ниже в Таблице 8. Подавление для каждого из антител приведено в виде процентной доли подавления сигнала в AlphaScreen при применении заданного антитела в концентрации 12,5 мкг/мл относительно сигнала, полученного в случае, когда в лунке для анализа не было антител. Некоторые антитела подавляли взаимодействие ST2 и IL-33 в более полной мере, чем они подавляли взаимодействие ST2/IL-33/АсР, а некоторые антитела подавляли взаимодействие ST2/IL-33/АсР в более полной мере, чем они подавляли взаимодействие ST2 и IL-33. Все антитела подавляли взаимодействие IL-33 с ST2 на по меньшей мере 50%.

Таблица 8

Название	% подавления ST2-IL33 AS 12,5 мкг/мл	% подавления ST2-АсР AS 12,5 мкг/мл
Ab6	98,5	71,2
Ab4	98,4	77,8
Ab9	75,9	93,1
Ab10	51,8	73,2
Ab1	98,1	86,9
Ab7	98,9	75,7
Ab3	98,8	68,7
Ab11	75,8	93,6
Ab5	96,3	33,8
Ab2	99,2	96,4

ПРИМЕР 7: In Vitro биоанализ человеческого IL-33

[00455] Примеры человеческих ST2 mAb исследовали в ходе человеческого биоанализа с применением очищенных CD4+ Т-клеток, полученных от разных доноров и стимулированных человеческим IL-33 и человеческим IL-2. Процедура анализа состоит в следующем. Клетки высевают в количестве 250000 клеток на лунку в 60 мкл объем в 96-луночный планшет с круглым дном. После

предварительной инкубации в каждую лунку добавляют 30 мкл 4х смеси huIL-2 + huIL-33. Общий объем в 96-луночной планшете с круглым дном составляет 120 мкл. Начинают с концентрации антител в 20 мкг/мл и проводят разбавления в пропорции 1:3, чтобы получить 10-точечную кривую. Процедуру проводят 4х в 30 мкл. После предварительной инкубации антител с клетками в каждую лунку добавляют 30 мкл 4х смеси из huIL-2 + huIL-33. Выдерживают при 37°C, 5% CO₂ на протяжении 48 часов. Супернатанты собирают. Анализируют подавление IL-5 huIL-5 при помощи ELISA.

[00456] На Фигуре 3 показано подавление ST2 mAb IL-33-индуцированной выработки IL-5 CD4+ Т-клетками, полученными от разных доноров. Линия (—) соответствует значению положительного контроля человеческого IL-33 в комбинации с человеческим IL-2 в отсутствие подавления. (····) соответствует значению положительного контроля человеческого IL-2. Линия (--) соответствует среднему контрольному значению. Человеческие CD4+ Т-клетки предварительно инкубировали на протяжении 30 минут с анти-ST2 mAb, а затем стимулировали на протяжении 48 часов человеческим IL-33 (4 нг/мл) и человеческим IL-2 (10 нг/мл). На ФИГ.3 показано, что антитела к ST2 способны подавлять индуцированную человеческим IL-33 активацию ST2, что определено по выработке IL-5 CD4+ Т-клетками. Антитела к ST2 оказались способны противодействовать индуцированной IL-33 выработке IL-5 CD4+ Т-клетками с величинами IC₅₀, составляющими приблизительно <100 нМ. В Таблице 9 приведены типичные величины для IC₅₀.

Таблица 9

Ab	IC ₅₀ (нМ)
2	5,25
8	6,90
10	6,90
1	10,68

9	62,01
5	64,54
11	479,86

ПРИМЕР 8: Анализ высвобождения IFN γ CD4+ Т-клетками яванских макак

[00457] Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) яванских макак обогащали из нормальной донорской периферической крови, обработанной кислой цитрат-декстрозой (ACD), посредством градиентного центрифугирования ISOLYMPH (Gallard-Schlesinger Industries, Plainview, Нью-Йорк). Последующее выделение CD4+ Т-клеток яванских макак проводили при помощи набора для выделения CD4+ Т-клеток яванских макак от Miltenyi Biotec. Выделенные CD4+ Т-клетки макак (2×10^5 клеток/лунку в 96-луночных планшетах) инкубировали с очищенными моноклональными антителами при разных концентрациях на протяжении 30 минут при комнатной температуре, а затем стимулировали IL-33 (10 нг/мл), IL-2 (10 нг/мл) и IL-12p70 (50 нг/мл) на протяжении восьмидесяти четырех часов. Затем полученные в результате бесклеточные супернатанты культуры CD4+ Т-клеток яванских макак анализировали на предмет присутствия IFN γ яванских макак при помощи ELISA (примеры данных приведены в Таблице 10). Эффективность очищенных моноклональных антител определяли в процессе исследования высвобождения IFN γ CD4+ Т-клетками яванских макак, взятыми от трех различных доноров.

Таблица 10

Величины IC-50	пМ
Ab1	15,82
Ab2	79,5
Ab3	15,15
Ab4	4,03
Ab5	12,9

Ab6	47,1
Ab7	40,01
Ab8	158,07

ПРИМЕР 9: Анализ высвобождения IL-8 эозинофилами человека

[00458] Человеческие эритроциты и гранулоциты обогащали из гепаринизированной нормальной донорской периферической крови посредством градиентного центрифугирования ISOLYMPH (Gallard-Schlesinger Industries, Plainview, Нью-Йорк). Эритроциты удаляли, используя лизирующий буфер АСК (Gibco, Карлсбад, Калифорния). Последующее выделение эозинофилов проводили при помощи набора для выделения эозинофилов от Miltenyi Biotec. Выделенные эозинофилы (2×10^5 клеток/лунку в 96-луночных планшетах) инкубировали с неклональными или клональными супернатантами с разной степенью разведения либо с очищенными моноклональными антителами при разных концентрациях на протяжении 30 минут при комнатной температуре, а затем стимулировали IL-33 (2 нг/мл) и IL-3 (100 нг/мл) на протяжении трех дней. Затем полученные в результате бесклеточные супернатанты культуры эозинофилов анализировали на предмет присутствия IL-8 при помощи ELISA. Примеры данных приведены в Таблице 11. Эффективность очищенных моноклональных антител определяли в процессе исследования высвобождения IL-8 эозинофилами, взятыми от трех различных доноров.

Таблица 11

IC-50	пМ
Ab1	51,45
Ab2	52,75
Ab3	50,38
Ab4	14,12
Ab5	73,27
Ab6	63,02

Ab7	40,68
Ab8	3120

ПРИМЕР 10: Эффективность антител к ST2 по сравнению с коммерчески доступными антителами

Исследование зависимости доза-эффект для человеческого IL-33 в человеческих NK-клетках

[00459] Первичные CD56-положительные человеческие NK-клетки (5×10^4 клеток) обрабатывали человеческим IL-12 (1 нг/мл), добавляя увеличивающиеся количества человеческого IL-33, как показано на ФИГ.4. Через двадцать четыре часа бесклеточные супернатанты собирали и измеряли концентрацию IFN- γ , используя коммерческий метод анализа (R&D Systems). 10 нг/мл IL-33 использовали в качестве стимулирующей дозы для подавления антителами к ST2.

Подавление активности IL-33 антителами

[00460] Человеческие NK-клетки стимулировали, как описано выше. За тридцать минут до добавления IL-33 и IL-12 в клетки добавляли антитела к ST2 в концентрациях, приведенных на ФИГ.5. Через двадцать два часа после обработки IL-33 бесклеточные супернатанты собирали и измеряли концентрацию IFN- γ , используя коммерческий метод анализа (R&D Systems). Названия клонов указаны для коммерчески доступных антител. Только Ab2 полностью подавляло IL-33-зависимый IFN- γ -ответ и оказалось существенно более эффективным, чем любое из коммерчески доступных антител huST2. Величины IC₅₀, соответствующие каждому антителу, приведены в Таблице 12.

Таблица 12

Антитело	IC ₅₀ (мкг/мл)
2A5	~608
HB12	7,700
B4E6	~43,54

FB9	~498,4
97203	0,3851
Ab2	0,04123

[00461] ПРИМЕР 11: Аланин/аргинин сканирующий мутагенез ST2

[00462] Данный пример характеризует антитела к ST2 на основании воздействия мутагенеза ST2 на их способность связывать мишень. Предварительные данные по связыванию указывают на то, что за связывание антител отвечают главным образом домены 1 и 2 ST2 в случае панели антител, которую анализировали при помощи сканирующего мутагенеза ST2 в данном Примере. Таким образом, в случае полноразмерного ST2 при конструировании мутационных участков в структурном отношении учитывали только домены 1 и 2 (D1D2) ST2.

[00463] Координаты комплексной модели ST2 и IL-33 получали из Lingel et al., *Structure (London, England: 1993). Elsevier Ltd 17, 1398-410*. Восприимчивость к растворителю, приходящаяся на каждый остаток боковой цепи ST2, рассчитывали при помощи Molecular Operating Environment (*Molecular Operating Environment (MOE), 2011.10; Chemical Computing Group Inc., 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2011.*). Затем эти значения восприимчивости к растворителю использовали при выборе поверхностных остатков D1D2 для мутагенеза, выбирая сначала все остатки D1D2, имеющие открытые участки боковой цепи с площадью в по меньшей 10 Å², или остатки глицина с общей открытой площадью в по меньшей мере 10 Å². Остатки глицина, имеющие положительное значение угла пи, удаляли, как и остатки пролина, так как существует высокая вероятность того, что мутации в данных позициях приведут к искажению локальной белковой структуры. Остатки цистеина также удаляли из выборки для сохранения дисульфидных связей. Остаток A82 удалили после визуальной проверки. При помощи данного метода получили перечень из 140 остатков для мутагенеза. Все остатки были заменены аргинином за исключением остатков

аргинина и лизина, которые были заменены аланином.

[00464] Все мутантные конструкции родительского His-Avi-меченого внеклеточного домена (ECD) ST2 в векторе pTT5 экспрессировали во временно трансфицированных суспензионных клетках 293-6E (NRCC) в 24-луночных планшетах. In-vivo биотинилирование осуществляли посредством котрансфекции BiR A в вектор pTT5. Для удаления излишка биотина супернатанты диализировали с PBS.

[00465] Для определения связывания антител к ST2 с точечными мутациями в ST2 использовали анализ связывания BioPlex. Биотинилированные мутанты связывали с 80 мечеными разным кодом покрытыми стрептавидином гранулами (Luminex, #L100-L1XX-01, XX определяет код гранулы). Наличие 80 разных кодов для гранул дало возможность объединить две группы по 70 мутантов в общую группу из 140. Каждая группа содержала 6 родительских контрольных проб, 3 контрольные пробы, содержащие нерелевантный белок, и одну пустую контрольную пробу. Связывание антител с мутантным белком сравнивали со связыванием антител с родительским белком.

[00466] 100 мкл 1:7 раствора мутантных ST2, родительских и контрольных проб, предварительно связанных с гранулами, или раствора, не содержащего белка, отмывали 5× PBS +1% BSA, собирали и разделяли на аликвоты в 96-луночном фильтровальном планшете (Millipore), а затем снова отмывали. Добавляли по 100 мкл 3-кратного раствора антител к ST2, чтобы втрое увеличить объем лунок, инкубировали на протяжении 1 часа при КТ и отмывали. В каждую лунку добавляли 100 мкл 1:500 раствора PE-конъюгированного античеловеческого IgG Fc (Jackson, #109-116-170), инкубировали на протяжении 0,5 часов и отмывали. Гранулы ресуспендировали в 75 мкл, встряхивали на протяжении по меньшей мере 3 минут и считывали на BioPlex.

[00467] Перед проведением анализа связывания проводили валидационный эксперимент, чтобы определить вариабельность "участка гранулы" к "участку гранулы" (B-B). В этом валидационном эксперименте все гранулы конъюгировали с одним и

тем же контрольным белком дикого типа. Следовательно, различия между участками гранул были связаны исключительно с изменчивостью В-В, а не вызваны различиями между белками дикого типа и мутантными. Титрование антител проводили для двенадцати реплик в разных лунках.

[00468] Целью данного статистического анализа была оценка В-В вариабельности расчетной величины EC50 для кривых связывания. Расчетное стандартное отклонение (SD) для В-В затем использовали для построения доверительных интервалов величины EC50 для белков дикого типа и мутантных в ходе экспериментов по сравнению кривых.

[00469] Данные по связыванию для каждого участка гранулы описывали логистической моделью с четырьмя параметрами. Результирующий файл "sumout.xls", содержащий результаты контроля качества (QC) и оценки параметров для наибольшего значения (max), наименьшего значения (min), угла наклона (slope) и натурального логарифма EC50 (xmid) для кривых, использовали в качестве исходных данных для анализа. Затем оценивали В-В вариабельность для каждого из параметров при помощи модели со смешанными эффектами, используя процедуру SAS PROC MIXED. В анализ были включены только те кривые, которые имели "хороший" QC-статус. Конечная модель со смешанными эффектами включала в качестве случайного эффекта только остаток (т.е., отдельные участки гранул). Предел среднего (LS) для каждого параметра также оценивали при помощи модели со смешанными эффектами. SD для В-В рассчитывали, извлекая квадратный корень и В-В вариации. Также рассчитывали кратность изменения между LS+2SD и LS-2SD, которая соответствует приблизительно верхнему и нижнему 97,5 перцентилю популяции.

[00470] Для определения мутантов, которые по сравнению с контролем дикого типа не демонстрировали значительного ответа, определяли и помечали как Hitmax мутантов, для которых максимальное значение (MFI) составляет менее 30% от максимального значения (MFI) для контроля дикого типа.

[00471] Сравнивали величины EC50 кривых связывания мутантов и кривых связывания белков дикого типа. Статистически

значимые отличия определяли как результаты для дальнейшего рассмотрения. Кривые с метками "nofit" и "badfit" исключали из данного анализа.

[00472] При сравнении расчетных величин EC50 учитывали два источника вариаций - вариацию из подбора кривой и вариацию гранула-гранула. Белки дикого типа и мутантные белки соединяли с разными гранулами, так как их различия обусловлены различиями гранула-гранула. Вариацию подбора кривой оценивали при помощи стандартной погрешности расчетных величин $\log EC50$. Вариацию гранула-гранула определяли экспериментально, проводя эксперимент, в котором контрольные белки дикого типа связывали с каждой из гранул. Связанную с гранулами вариацию в расчетных величинах EC50 кривых связывания белков дикого типа в этом эксперименте использовали для расчета вариации гранула-гранула в текущем эксперименте по картированию.

[00473] Сравнение двух значений EC50 (в логарифмической шкале) проводили, используя t-критерий Стьюдента. t-статистику определяли как соотношение между дельтой (абсолютная разница между расчетными величинами EC50) и стандартным отклонением дельта. Дисперсию дельта оценивали по сумме из трех компонентов - оценочной дисперсии EC50 для кривых мутантных белков и белков дикого типа, характеризующихся нелинейной регрессией, и двойной дисперсии гранула-гранула, определенной в отдельном эксперименте. Умножение на два дисперсии гранула-гранула происходит вследствие предположения, что мутантные гранулы и гранулы дикого типа обладают одинаковой дисперсией.

[00474] Степени свободы стандартного отклонения дельты рассчитывали, используя аппроксимацию Саттертвайта (1946).

[00475] Индивидуальные p-значения и доверительные интервалы (95% и 99%) получали на основании распределения Стьюдента для каждого сравнения.

[00476] В случае большого количества контролей дикого типа использовали консервативный подход, в котором выбирали контроль дикого типа, который был наиболее схож с мутантом, т.е., выбирали те образцы, которые имели наибольшие p-значения.

[00477] Множественные корректировки важны для того, чтобы

контролировать ложноположительные результаты при одновременном проведении большого количества исследований. В данном анализе применяли два вида множественных корректировок: контроль ошибки с поправкой на эффект множественных сравнений (FWE) и контроль доли ложноположительных результатов (FDR). В подходе FWE контролируется возможность того, что один или более результатов являются ошибочными; в подходе FDR контролируется ожидаемое содержание ложноположительных результатов среди выбранных результатов. Первый подход является более консервативным и менее эффективным, чем последний. Существует множество методов, доступных для обоих подходов; для данного исследования авторы изобретения выбрали метод Хохберга (1988) для анализа FWE и FDR-метод Бенджамини-Хохберга (1995) для анализа FDR. Скорректированные р-значения для обоих подходов рассчитывали как для каждого антитела, так и для анализа в целом.

[00478] Мутант считали таким, который оказывает влияние по следующим критериям: 1) если для этого мутанта получали плохое согласование или не получали согласования результатов, 2) если мутант был выбран по критерию hitmax, 3) если р-значение для ошибки с поправкой на эффект множественных сравнений составило менее 0,01, или 4) если значение Bmax составило более чем 200% от родительского. Результат определяли как ингибитор, если его влияние приводило к снижению Bmax или увеличению значения EC50, результат определяли как активатор, если он приводил к увеличению Bmax или снижению значения EC50. 8 мутаций исключили из списка совпадений из-за их влияния на >90% исследуемых антител, среди них: K37A, R46A, D63R, V71R, G106R, K112A, N132R, Q137R и Y141R.

[00479] Результаты анализа приведены в Таблицах 13 и 14.

Таблица 13

Ab	Сорт	Ингибирующие мутанты	Активирующие мутанты
Ab2	1	L14R, I15R, S33R, E43R, V47R, A62R, G65R, T79R, D92R, D97R, V104R, G138R, N152R, V176R	L53R, R72A, S73R

Ab3	1	S3R, E10R, I15R, S33R, E43R, V47R, A62R, G65R, F76R, T79R, D92R, D97R, V104R, T124R, K131A, Q134R, G138R, F147R, V176R, V184R	D29R, L53R, V61R, R72A, T162R
Ab32	1	S3R, I15R, Y32R, S33R, E43R, V47R, S50R, K55A, A62R, G65R, T79R, D92R, V95R, D97R, V104R, E128R, Q134R, G138R, S146R, F147R, V176R	D29R, R72A
Ab33	1	S3R, I15R, Y32R, S33R, T35R, E43R, V47R, S50R, K55A, A62R, G65R, T79R, D92R, V95R, D97R, V104R, E128R, Q134R, G138R, S146R, F147R, N152R, V176R	D29R, R72A
Ab30	1	S3R, L14R, Y26R, S33R, T35R, E43 R, V47R, A62R, G65R, T79R, D92R, V104R, , G138R, , A143R, F147R, N 152R, V176R, V184R	R72A
Ab11	2	S50R, S175R	W7R, E10R, L14R, Q21R, E43R, T79R, N110R, T177R, V184R, K185A
Ab10	2	A49R, S50R, I70R, S175R, S181R	K4A, Q5R, W7R, E10R, L14R, I15R, Q21R, Y26R, E43R, T79R, M100R, K109A, N110R, T124R, K145A, T177R, V184R, K185A
Ab29	3	N11R, V47R, S50R, Y67R, N83R, V104R, L120R, G138R, S139R, S146R, F147R, A172R	

Ab	Не оказывающие влияния мутанты
Ab2	K1A, F2R, S3R, K4A, Q5R, S6R, W7R, L9R, E10R, N11R, E12R, A13R, V16R, R17A, R20A, Q21R, K23A, S25R, Y26R, V28R, D29R, Y31R, Y32R, Q34R, T35R, N36R, S38R, T41R, Q42R, R44A, N45R, A49R, S50R, G51R, Q52R, K55A, L57R, E60R, V61R, S64R, I66R, Y67R, T68R, I70R, T75R, F76R, N77R, R78A, G80R, Y81R, N83R, T85R, Y87R, K88A, K89A, Q90R, S91R, N94R, V95R, Y98R, M100R, Y101R, S102R, T103R, S107R, E108R, K109A, N110R, Y114R, T117R, D119R, L120R, Y121R, N122R, W123R, T124R, E128R, F130R, K131A, Q134R, A135R, S139R, R140A, R142A, A143R, H144R, K145A, S146R, V149R, D151R, M154R, T155R, E156R, A158R, D160R, T162R, K164A, I166R, H167R, N168R, N170R, A172R, N173R, Y174R, S175R, T177R, R180A, S181R, T183R, V184R, K185A, D186R, E187R
Ab3	K1A, F2R, K4A, Q5R, S6R, W7R, L9R, N11R, E12R, A13R, L14R, V16R, R17A, R20A, Q21R, K23A, S25R, Y26R, V28R, Y31R, Y32R, Q34R, T35R, N36R, S38R, T41R, Q42R, R44A, N45R, A49R, S50R, G51R, Q52R, K55A, L57R, E60R, S64R, I66R, Y67R, T68R, I70R, S73R, T75R, N77R, R78A, G80R, Y81R, N83R, T85R, Y87R, K88A, K89A, Q90R, S91R, N94R, V95R, Y98R, M100R, Y101R, S102R, T103R, S107R, E108R, K109A, N110R, Y114R, T117R, D119R, L120R, Y121R, N122R, W123R, E128R, F130R, A135R, S139R, R140A, R142A, A143R, H144R, K145A, S146R, V149R, D151R, N152R, M154R, T155R, E156R, A158R, D160R, K164A, I166R, H167R, N168R, N170R, A172R, N173R, Y174R, S175R, T177R, R180A, S181R, T183R, K185A, D186R, E187R
Ab32	K1A, F2R, K4A, Q5R, S6R, W7R, L9R, E10R, N11R, E12R, A13R, L14R, V16R, R17A, R20A, Q21R, K23A, S25R, Y26R, V28R, Y31R, Q34R, T35R, N36R, S38R, T41R, Q42R, R44A, N45R, A49R, G51R, Q52R, L53R, L57R, E60R, V61R, S64R, I66R, Y67R, T68R, I70R, S73R, T75R, F76R, N77R, R78A, G80R, Y81R, N83R, T85R, Y87R, K88A, K89A, Q90R, S91R, N94R, Y98R, M100R, Y101R, S102R, T103R, S107R, E108R, K109A, N110R, Y114R, T117R, D119R, L120R, Y121R, N122R, W123R, T124R, F130R, K131A, A135R, S139R, R140A, R142A, A143R, H144R, K145A, V149R, D151R, N152R, M154R, T155R, E156R, A158R, D160R, T162R, K164A, I166R, H167R, N168R, N170R, A172R, N173R, Y174R, S175R, T177R, R180A, S181R, T183R, V184R, K185A, D186R, E187R

Ab33 K1A, F2R, K4A, Q5R, S6R, W7R, L9R, E10R, N11R, E12R, A13R, L14R, V16R, R17A, R20A, Q21R, K23A, S25R, Y26R, V28R, Y31R, Q34R, N36R, S38R, T41R, Q42R, R44A, N45R, A49R, G51R, Q52R, L53R, L57R, E60R, V61R, S64R, I66R, Y67R, T68R, I70R, S73R, T75R, F76R, N77R, R78A, G80R, Y81R, N83R, T85R, Y87R, K88A, K89A, Q90R, S91R, N94R, Y98R, M100R, Y101R, S102R, T103R, S107R, E108R, K109A, N110R, Y114R, T117R, D119R, L120R, Y121R, N122R, W123R, T124R, F130R, K131A, A135R, S139R, R140A, R142A, A143R, H144R, K145A, V149R, D151R, M154R, T155R, E156R, A158R, D160R, T162R, K164A, I166R, H167R, N168R, N170R, A172R, N173R, Y174R, S175R, T177R, R180A, S181R, T183R, V184R, K185A, D186R, E187R

Ab30 K1A, F2R, K4A, Q5R, S6R, W7R, L9R, E10R, N11R, E12R, A13R, I15R, V16R, R17A, R20A, Q21R, K23A, S25R, V28R, D29R, Y31R, Y32R, Q34R, N36R, S38R, T41R, Q42R, R44A, N45R, A49R, S50R, G51R, Q52R, L53R, K55A, L57R, E60R, V61R, S64R, I66R, Y67R, T68R, I70R, S73R, T75R, F76R, N77R, R78A, G80R, Y81R, N83R, T85R, Y87R, K88A, K89A, Q90R, S91R, N94R, V95R, D97R, Y98R, M100R, Y101R, S102R, T103R, S107R, E108R, K109A, N110R, Y114R, T117R, D119R, L120R, Y121R, N122R, W123R, T124R, E128R, F130R, K131A, Q134R, A135R, S139R, R140A, R142A, H144R, K145A, S146R, V149R, D151R, M154R, T155R, E156R, A158R, D160R, T162R, K164A, I166R, H167R, N168R, N170R, A172R, N173R, Y174R, S175R, T177R, R180A, S181R, T183R, K185A, D186R, E187R

Ab11 K1A, F2R, S3R, K4A, Q5R, S6R, L9R, N11R, E12R, A13R, I15R, V16R, R17A, R20A, K23A, S25R, Y26R, V28R, D29R, Y31R, Y32R, S33R, Q34R, T35R, N36R, S38R, T41R, Q42R, R44A, N45R, V47R, A49R, G51R, Q52R, L53R, K55A, L57R, E60R, V61R, A62R, S64R, G65R, I66R, Y67R, T68R, I70R, R72A, S73R, T75R, F76R, N77R, R78A, G80R, Y81R, N83R, T85R, Y87R, K88A, K89A, Q90R, S91R, D92R, N94R, V95R, D97R, Y98R, M100R, Y101R, S102R, T103R, V104R, S107R, E108R, K109A, Y114R, T117R, D119R, L120R, Y121R, N122R, W123R, T124R, E128R, F130R, K131A, Q134R, A135R, G138R, S139R, R140A, R142A, A143R, H144R, K145A, S146R, F147R, V149R, D151R, N152R, M154R, T155R, E156R, A158R, D160R, T162R, K164A, I166R, H167R, N168R, N170R, A172R, N173R, Y174R, V176R, R180A, S181R, T183R, D186R, E187R

Ab10 K1A, F2R, S3R, S6R, L9R, N11R, E12R, A13R, V16R, R17A, R20A, K23A, S25R, V28R, D29R, Y31R, Y32R, S33R, Q34R, T35R, N36R, S38R, T41R, Q42R, R44A, N45R, V47R, G51R, Q52R, L53R, K55A, L57R, E60R, V61R, A62R, S64R, G65R, I66R, Y67R, T68R, I70R, R72A, S73R, T75R, F76R, N77R, R78A, G80R, Y81R, N83R, T85R, Y87R, K88A, K89A, Q90R, S91R, D92R, N94R, V95R, D97R, Y98R, Y101R, S102R, T103R, V104R, S107R, E108R, Y114R, T117R, D119R, L120R, Y121R, N122R, W123R, E128R, F130R, K131A, Q134R, A135R, G138R, S139R, R140A, R142A, A143R, H144R, S146R, F147R, V149R, D151R, N152R, M154R, T155R, E156R, A158R, D160R, T162R, K164A, I166R, H167R, N168R, A172R, N173R, Y174R, V176R, R180A, T183R, D186R, E187R

Ab29 K1A, F2R, S3R, K4A, Q5R, S6R, W7R, L9R, E10R, E12R, A13R, L14R, I15R, V16R, R17A, R20A, Q21R, K23A, S25R, Y26R, V28R, D29R, Y31R, Y32R, S33R, Q34R, T35R, N36R, S38R, T41R, Q42R, E43R, R44A, N45R, A49R, G51R, Q52R, L53R, K55A, L57R, E60R, V61R, A62R, S64R, G65R, I66R, T68R, I70R, R72A, S73R, T75R, F76R, N77R, R78A, T79R, G80R, Y81R, T85R, Y87R, K88A, K89A, Q90R, S91R, D92R, N94R, V95R, D97R, Y98R, M100R, Y101R, S102R, T103R, S107R, E108R, K109A, N110R, Y114R, T117R, D119R, Y121R, N122R, W123R, T124R, E128R, F130R, K131A, Q134R, A135R, R140A, R142A, A143R, H144R, K145A, V149R, D151R, N152R, M154R, T155R, E156R, A158R, D160R, T162R, K164A, I166R, H167R, N168R, N170R, N173R, Y174R, S175R, V176R, T177R, R180A, S181R, T183R, V184R, K185A, D186R, E187R

ПРИМЕР 12: Анализ водородно-дейтериевого обмена (HDX)

[00480] В данном Примере Ab2 связывали с ST2 и определяли эффект от связывания при помощи HDX.

[00481] Растворимый белок ST2 (домены 1-3, содержащие аминокислоты 19-322 из SEQ ID NO:1) с FLAG-меткой и His-меткой в С-конце временно экспрессировали в клетках 293-6Е млекопитающих, и очищали при помощи IMAC (афинной хроматографии на иммобилизованных ионах металла) и дополнительно очищали при помощи препаративной SEC (эксклюзионной хроматографии). Затем белок концентрировали до 3,5 мг/мл, используя ультра-фильтрацию. Антитело, Ab2, к ST2 экспрессировали в сконструированных клетках CHO-CS9 и очищали при помощи аффинной хроматографии с протеином А и последовательной препаративной SEC. Аналитическую SEC использовали для определения того, что молярное соотношение

антитело:антиген 0,75:1,00 является оптимальным, чтобы гарантировать полное связывание белка ST2 антителом. Свободный белок ST2 и комплекс антиген-антитело хранили в PBS-буфере, pH 7,2.

[00482] HDX эксперимент проводили при помощи автоматизированной HDX-системы (Zhang, Zhang et al. 2012). Вкратце, процесс обмена H/D начинается с разведения 5 мкл раствора свободного белка ST2 (3,5 мг/мл) или комплекса ST2-антитело (с концентрацией jST2 в 3,5 мг/мл, соотношением антиген:антитело 1:0,75) в 25 мкл буфера D₂O в 100 mM PBS, pH 7,2, который готовили, растворяя таблетку PBS в D₂O воде при 25°C. Реакцию обмена инкубировали на протяжении разного времени мечения (30 секунд, 2, 8, 30 минуты и 2, 8 часов) для каждого HDX эксперимента, а реакцию мечения завершали посредством смешивания 20 мкл метящего раствора с 80 мкл завершающего/денатурирующего/восстановительного буфера (7,25 M мочевины и 625 mM трис(2-карбоксиэтил)фосфина (ТСЕР), 0,45 M глицина, pH 2,7) при 1°C.

[00483] 40 мкл аликвоту полученного раствора переносили в 120 мкл раствор, содержащий 0,4 мг/мл свиного пепсина (Sigma, Ст. Луис, Миссури). Расщепляющий раствор незамедлительно инъецировали в пробоотборную петлю при 1°C и оставляли на 6 мин для полного расщепления. Далее гидролизат разделяли колонками C18 (3 колонки в ряду, ВЕН C18, 2,1 мм × 5 мм, Waters Corp., Милфорд, Массачусетс). HPLC-сепарацию проводили при 1°C с 5-мин градиентом ACN в 1-40%. Элюэнт LC анализировали при помощи масс-спектрометра Orbitrap Elite (Thermo Scientific, Сан Хосе, Калифорния) в зависящем от данных LC-MS/MS эксперименте.

[00484] Введение дейтериевой метки, завершение реакции, протеолитическое расщепление и инъецирование проводили при помощи системы LEAP HD-X PAL, управляемой LEAP Shells (LEAP Technologies, Каррборо, Северная Каролина).

[00485] Эксперименты повторяли трижды, а в каждом эксперименте измерения для каждой временной точки проводили дважды. В образцы добавляли стандартную пептидную смесь, чтобы

отслеживать и корректировать вариабельность, связанную с обратным обменом. Смесь содержит три пептида: брадикинин, ангиотензин I и лейцин-энкефалин. Специально сконструированный тетрапептид PPPI (синтезированный AnaSpec, Фремонт, Калифорния) использовали в качестве второго внутреннего стандарта для минимизации вариабельности, связанной с проведением большого количества экспериментов. Также в качестве контроля анализировали расщепление белка ST2 в отсутствие H/D обмена.

[00486] Файлы, содержащие результирующие данные, обрабатывали при помощи программы MassAnalyzer (Zhang, Zhang et al. 2012). Данное программное обеспечение позволяет определить пептиды из продуктов расщепления антигена, рассчитать скорость обмена для каждого пептида, скорректировать данные с учетом информации по обратному обмену, полученной при помощи внутренних стандартов, и описать данные с помощью модели, которая каждому остатку присваивает фактор защиты.

[00487] Сравнение обменных профилей для свободного ST2 и связанного антителом ST2 выявило два представляющих интерес участка, которые потенциально могут являться эпитопами. Два участка в последовательности ST2 были определены как IVRCPRQGKPSY (аминокислоты 33-44 SEQ ID NO:1, соответствующие аминокислотам 15-26 зрелого ST2) и IVRSPTF (аминокислоты 88-94 SEQ ID NO:1, соответствующие аминокислотам 70-76 зрелого ST2) при помощи большого количества перекрывающихся пептидов. Такие участки были менее защищены, когда ST2 находился в свободном состоянии, при этом скорость обмена резко падала при связывании ST2 и антитела. Более того, на основании гомологичной структурной модели ST2, приведенной на Фигуре 6, можно заключить, что оба эти участка последовательности занимают аналогичное пространственное положение на внешней поверхности белка. Эти результаты позволяют заключить, что указанные два пептида принимают участие в связывании между Ab2 и белком ST2.

ПРИМЕР 13: Рентгеноструктурная кристаллография

[00488] В данном Примере кристаллическая структура комплекса из sc-dsFv фрагмента Ab2 и ST2 обеспечивает наличие определенных аминокислотных остатков в области взаимодействия.

[00489] Ab2 sc-dsFv экспрессировали в клетках BL21(DE3) Star. Вкратце, Ab2 sc-dsFv содержит переменный домен тяжелой цепи, связанный с переменным доменом легкой цепи посредством линкера $(G_4S)_3$. Для дополнительной стабилизации молекулы в структуру молекулы добавляли дисульфидную связь при помощи замены на цистеин в позиции 44 переменного участка тяжелой цепи и в позиции 101 переменного участка легкой цепи. Белок экспрессировали в виде тела включения. Тело включения растворяли и проводили рефолдинг. Белок дополнительно очищали на эксклюзионной колонке (SEC) и ионообменной колонке MonoQ, а затем шлифовали при помощи SEC.

[00490] ST2 экспрессировали в клетках 293S. Белок очищали при помощи Ni-аффинной колонки и дегликозилировали с EndoH. Белок дополнительно очищали при помощи SEC.

[00491] Комплекс из Ab2 sc-dsFv и ST2 получали, смешивая Ab2 sc-dsFv с избыточным количеством ST2. Комплекс очищали при помощи SEC и концентрировали до 12 мг/мл для кристаллизации. Белковый комплекс кристаллизировали в 32-36% PEG400 и 0,1 M HEPES, pH 7,5-8,5, при 16°C, применяя метод диффузии паров в сидячей капле.

[00492] Массив данных с разрешением 1,9 Å получали из Advanced Light Source, Lawrence Berkeley National Lab (Беркли, Калифорния). Данные обрабатывали при помощи MOSFLM (Leslie, 1992) и оценивали при помощи SCALA в программном пакете CCP4 (Collaborative Computational Project, No 4. (1994)). Структуру расшифровывали методом молекулярного замещения в программе PHASER (McCoy et al., 2007), используя в качестве поисковых моделей домен D1D2 из известной структуры IL-1RII (pdb code: 3O4O) и переменный домен из структуры Fab Ab2. Уточнение повторяющейся структуры и построение модели осуществляли при помощи REFMAC5 (Murshudov et al., 1997) и COOT (Emsley and Cowtan, 2004).

[00493] Анализ области контакта проводили при помощи программ PISA, AREAMOL и NCONTACT из программного пакета CCP4. Фигуры строили при помощи PyMol (The PyMOL Molecular Graphics

System. Schrödinger).

[00494] Кристаллическую структуру комплекса ST2/Ab2 sc-dsFv расшифровывали до разрешения в 1,9 Å. В асимметрической ячейке находится две независимые пары комплексов ST2/Ab2 sc-dsFv (ФИГ.7). Каждый комплекс состоял из молекулы ST2 и одного фрагмента sc-dsFv Ab2. Молекула ST2 состоит из двух IgG-подобных доменов (домены D1 и D2). Fv-домен Ab2 задействует все шесть петель CDR тяжелой цепи и легкой цепи для взаимодействия с молекулой ST2 (ФИГ.8). В молекуле ST2 две петли (петля BC и петля FG) и N-конец ST2 прямо взаимодействуют с антителом. Общая внутренняя доступная для растворителя площадь поверхности между ST2 и Ab2 sc-dsFv составляет 1803 Å².

[00495] Область контакта между ST2 и Ab2 является высокозаряженной. ST2 содержит кластер из основных остатков (Lys и Arg) в домене D1. Этот положительно заряженный участок поверхности дополняет отрицательно заряженный участок на Ab2, образованный кластерами из кислотных остатков (Asp и Glu) в CDR-областях (ФИГ.9).

[00496] Для определения остатков области контакта применяли два разных метода. В первом методе остатки области контакта определяли при помощи разницы в площади поверхности, доступной для растворителя. Для каждого остатка в ST2 (или Ab2 sc-dsFv) в комплексе рассчитывали площадь поверхности, доступную для растворителя, и сравнивали с площадью поверхности, доступной для растворителя, соответствующих остатков в ST2 (или Ab2 sc-dsFv) вне комплекса. Все аминокислоты с разницей более 10% перечислены в Таблице 15 и Таблице 16, соответственно, для ST2 и Ab2. Разница в площади поверхности для Arg72 и Tyr81 в ST2 составляет менее 10%. При этом исследование структуры комплекса выявило, что оба остатка образуют водно-опосредованные водородные связи с остатками тяжелой цепи Ab2, и поэтому они включены в перечень.

Таблица 15

Остатки, составляющие эпитоп, определенные при помощи разницы в площади поверхности, доступной для растворителя: ST2.

Номера остатков соответствуют позициям аминокислот в зрелом ST2, т.е., аминокислота 1 соответствует аминокислоте 19 из

SEQ ID NO:1

Остаток	Номер остатка	ДПП в комплексе	ДПП без комплекса	соотношение	процентное изменение (%)
LYS	1	68.5	196.9	0.348	65.2
PHE	2	48.4	106.2	0.456	54.4
PRO	19	7.9	10.8	0.731	26.9
ARG	20	0	79.6	0.000	100.0
GLN	21	81.7	98.1	0.833	16.7
GLY	22	17.8	59.3	0.300	70.0
LYS	23	51.5	130.6	0.394	60.6
TYR	26	32.4	56.6	0.572	42.8
ILE	70	16.6	30.9	0.537	46.3
VAL	71	1.7	5.3	0.321	67.9
ARG	72	52.2	56.9	0.917	8.3
SER	73	18	22.2	0.811	18.9
PRO	74	70.9	106.8	0.664	33.6
THR	75	3.8	84.6	0.045	95.5
PHE	76	0	134.3	0.000	100.0
ASN	77	2.8	47.6	0.059	94.1
ARG	78	1.1	83.6	0.013	98.7
THR	79	7	37	0.189	81.1
TYR	81	78.3	80.8	0.969	3.1
ASN77-NAG	502	148.2	249	0.595	40.5

Таблица 16

Остатки, составляющие паратоп, определенные при помощи разницы в площади поверхности, доступной для растворителя:

Ab2

Остатки HC	номер остатка	ДПП в комплексе	ДПП без комплекса	соотношение	процентное изменение
TRP	33	1.9	32.2	0.059	94.1
ILE	50	0	8.3	0.000	100.0
ASP	57	52.8	59.6	0.886	11.4
ARG	59	60.4	89.5	0.675	32.5
HIS	99	2	6.6	0.303	69.7
GLY	100	3.6	5.5	0.655	34.5
THR	101	27.5	35.9	0.766	23.4
SER	102	48.8	97.6	0.500	50.0
SER	103	45.3	111.8	0.405	59.5
ASP	104	23.1	93	0.248	75.2
TYR	105	1.9	75.4	0.025	97.5
TYR	106	36.8	64.6	0.570	43.0

Остатки LC	номер остатка	ДПП в комплексе	ДПП без комплекса	соотношение	процентное изменение
ASP	28	85.1	105.2	0.809	19.1
SER	30	11.9	50.9	0.234	76.6
ASN	31	12.5	47.1	0.265	73.5
TYR	32	1.1	109.9	0.010	99.0
TYR	49	8.4	58.1	0.145	85.5
ASP	50	8.1	51.5	0.157	84.3
ASN	53	20.2	59.5	0.339	66.1
GLU	55	27.5	38.4	0.716	28.4
THR	56	116.9	127.4	0.918	8.2
ASP	91	2	27.4	0.073	92.7
ASP	92	2.5	54.1	0.046	95.4
ASN	93	50.5	69.5	0.727	27.3
PHE	94	54.9	110.9	0.495	50.5
LEU	96	2.9	7.8	0.372	62.8

[0497] Во втором методе выбирали остатки области контакта, которые содержат по меньшей мере один атом в пределах предопределенного расстояния до своего парного белка. На основании разных предельных расстояний были определены две оболочки.

[00498] Внутренняя оболочка включает все остатки на расстоянии до 5,0 Å.

[00499] Граничная оболочка включает все остатки на расстоянии более 5,0 Å, но менее 8,0 Å.

[00500] Полный перечень аминокислотных остатков в каждой оболочке для ST2, тяжелой и легкой цепи Ab2 приведен в Таблицах 17, 18 и 19, соответственно. Для тех остатков, которые образуют водородную связь или соляные мостики со своими парными белками, тип специфического взаимодействия указан в скобках после названия остатка (BC для водородной связи и CM для соляного мостика).

Таблица 17

Остатки, составляющие эпитоп, определенные по предельному расстоянию: ST2. Номера остатков соответствуют позициям аминокислот в зрелом ST2, т.е., аминокислота 1 соответствует аминокислоте 19 из SEQ ID NO:1

Внутренние (0–5 Å)	Граничные (5–8 Å)
1 (LYS) (BC/CM)	3 (SER)
2 (PHE)	4 (LYS)

19 (PRO)	18 (CYS)
20 (ARG) (BC/CM)	24 (PRO)
21 (GLN)	27 (THR)
22 (GLY)	28 (VAL)
23 (LYS) (BC/CM)	31 (TYR)
26 (TYR) (BC)	68 (THR)
70 (ILE)	69 (CYS)
71 (VAL)	80 (GLY)
72 (ARG)	81 (TYR)
73 (SER)	
74 (PRO)	
75 (THR) (BC)	
76 (PHE)	
77 (ASN) (BC)	
78 (ARG) (BC/CM)	
79 (THR) (BC)	
502 (NAG) – 77 (ASN)	

Таблица 18

Остатки, составляющие паратоп, определенные по предельному
расстоянию: тяжелая цепь Ab2

Внутренние (0–5 Å)	Граничные (5–8 Å)
33 (TRP)	31 (ASN)
50 (ILE)	32 (TYR)
57 (ASP)	34 (ILE)
59 (ARG)	47 (TRP)
99 (HIS)	52 (TYR)
100 (GLY)	55 (ASN)
101 (THR)	58 (THR)

102 (SER) (BC)	98 (ARG)
103 (SER) (BC)	107 (GLY)
104 (ASP) (BC/CM)	108 (LEU)
105 (TYR) (BC)	109 (ASP)
106 (TYR)	

Таблица 19

Остатки, составляющие паратоп, определенные по предельному
расстоянию: легкая цепь Ab2

Внутренние (0–5 Å)	Граничные (5–8 Å)
28 (ASP) (BC)	2 (ILE)
29 (ILE)	27 (GLN)
30 (SER)	33 (LEU)
31 (ASN) (BC)	34 (ASN)
32 (TYR)	46 (LEU)
49 (TYR)	52 (SER)
50 (ASP) (BC/CM)	54 (LEU)
53 (ASN)	67 (SER)
55 (GLU) (BC/CM)	68 (GLY)
56 (THR)	89 (GLN)
91 (ASP) (BC/CM)	90 (GLN)
92 (ASP) (BC/CM)	95 (PRO)
93 (ASN)	96 (LEU)
94 (PHE)	
96 (LEU)	

[00501] Остатки, составляющие эпитоп, определенные при помощи разницы в площади поверхности, доступной для растворителя, совпадали с остатками из внутренних групп взаимодействия, определенных по предельному расстоянию. В Таблице 20 перечислены все пары в пределах области контакта,

содержащие водородные связи или соляные мостики.

Таблица 20

Взаимодействующие пары в области контакта

Водородные связи					Водородные связи				
##	Структура 1	Расст.	Структура 2		##	Структура 1	Расст.	Структура 2	
1	L:ASN 31 [ND2]	3.4	A:ARG 20 [O]		1	H:TYR 105 [N]	3.3	A:ASN 77 [O]	
2	L:GLU 55 [OE1]	2.7	A:LYS 1 [NZ]		2	H:SER 102 [O]	2.6	A:ASN 77 [ND2]	
3	L:ASP 50 [OD2]	2.8	A:ARG 20 [NE]		3	H:SER 103 [O]	2.7	A:THR 79 [OG1]	
4	L:ASP 50 [OD1]	3.0	A:ARG 20 [NH2]		4	H:ASP 104 [OD1]	2.7	A:LYS 1 [N]	
5	L:ASP 28 [O]	2.9	A:LYS 23 [NZ]		5	H:ASP 104 [OD2]	2.8	A:THR 79 [N]	
6	L:ASP 92 [OD1]	2.9	A:LYS 23 [NZ]		6	H:ASP 104 [OD2]	2.9	A:ARG 20 [NH1]	
7	L:ASP 92 [OD1]	3.3	A:TYR 26 [OH]		7	H:TYR 105 [O]	2.8	A:ARG 20 [NH2]	
8	L:ASP 91 [O]	2.7	A:THR 75 [OG1]		Соляные мостики				
9	L:ASP 91 [O]	3.0	A:ARG 78 [NH2]		##	Структура 1	Расст.	Структура 2	
10	L:ASP 91 [OD2]	3.0	A:ARG 78 [NH2]		1	H:ASP 104 [OD1]	2.7	A:LYS 1 [N]	
Соляные мостики					2	H:ASP 104 [OD2]	3.2	A:LYS 1 [N]	
##	Структура 1	Расст.	Структура 2		3	H:ASP 104 [OD2]	2.9	A:ARG 20 [NH1]	
1	L:GLU 55 [OE1]	2.7	A:LYS 1 [NZ]						
2	L:GLU 55 [OE2]	3.6	A:LYS 1 [NZ]						
3	L:ASP 50 [OD1]	3.9	A:ARG 20 [NE]						
4	L:ASP 50 [OD2]	2.8	A:ARG 20 [NE]						
5	L:ASP 50 [OD1]	3.0	A:ARG 20 [NH2]						
6	L:ASP 50 [OD2]	3.4	A:ARG 20 [NH2]						
7	L:ASP 92 [OD2]	3.4	A:LYS 23 [NZ]						
8	L:ASP 92 [OD1]	2.9	A:LYS 23 [NZ]						
9	L:ASP 91 [OD2]	3.0	A:ARG 78 [NH2]						

[0502] Участки, соответствующие эпитомам ST2, определенные при помощи HDX-MS анализа, описанного в Примере 12, подтверждаются кристаллографическими данными. Два эпитопа (15-26 и 70-76) согласно HDX были идентифицированы как эпитопы согласно имеющим более высокое разрешение кристаллографическим данным. В частности, было обнаружено, что Arg20, Gly22, Lys23 и Tyr26, а также Thr75 расположены близко к антителу на расстоянии менее 3,4 Å. Дополнительные остатки, для которых определенное расстояние до антитела составило между 3,4 и 5 Å (Pro19, Gln21, Ile70, Val71, Arg72, Ser73 Pro74 и Phe76), также входили в состав эпитопов согласно HDX.

[00503] В общем случае результаты подтверждают, что участки, соответствующие эпитомам ST2, определенные при помощи HDX-MS и кристаллографии, совпадают. Основными участками взаимодействия являются ВС-петля и FG-петля Домена 1 (см. кристаллографические данные).

ССЫЛКИ

[00504] Ali, M., G. Zhang, et al. (2009). "Investigations into the role of ST2 in acute asthma in children." Tissue Antigens 73(3): 206-212.

[00505] Beltran, C. J., L. E. Nunez, et al. (2010). "Characterization of the novel ST2/IL-33 system in patients with inflammatory bowel disease." Inflamm Bowel Dis 16(7): 1097-1107.

[00506] Brunner, M., C. Krenn, et al. (2004). "Increased levels of soluble ST2 protein and IgG1 production in patients with sepsis and trauma." Intensive Care Med 30(7): 1468-1473.

[00507] Buysschaert, I. D., V. Grulois, et al. (2010). "Genetic evidence for a role of IL33 in nasal polyposis." Allergy 65(5): 616-622.

[00508] Castano R, B. Y., Mfuna Endam L, Desrosiers M (2009). "Evidence of association of Interleukin 1 receptor-like 1 gene polymorphisms with surgery unresponsive Chronic Rhinosinusitis." American Journal of Rhinology in press(NA): NA.

[00509] Gudbjartsson, D. F., U. S. Bjornsdottir, et al. (2009). "Sequence variants affecting eosinophil numbers associate with asthma and myocardial infarction." Nat Genet 41(3): 342-347.

[00510] Hacker, S., C. Lambers, et al. (2009). "Increased soluble serum markers caspase-cleaved cytokeratin-18, histones, and ST2 indicate apoptotic turnover and chronic immune response in COPD." J Clin Lab Anal 23(6): 372-379.

[00511] Kuroiwa, K., T. Arai, et al. (2001). "Identification of human ST2 protein in the sera of patients with autoimmune diseases." Biochem Biophys Res Commun 284(5): 1104-1108.

[00512] Manetti, M., L. Ibba-Manneschi, et al. (2009). "The IL-1-like cytokine IL-33 and its receptor ST2 are abnormally expressed in the affected skin and visceral organs of patients with systemic sclerosis." Ann Rheum Dis.

[00513] Marvie, P., M. Lisbonne, et al. (2009).

"Interleukin-33 overexpression is associated with liver fibrosis in mice and humans." J Cell Mol Med.

[00514] Matsuyama, Y., H. Okazaki, et al. (2010). "Increased levels of interleukin 33 in sera and synovial fluid from patients with active rheumatoid arthritis." J Rheumatol 37(1): 18-25.

[00515] Miyagaki, T., M. Sugaya, et al. (2011). "High Levels of Soluble ST2 and Low Levels of IL-33 in Sera of Patients with HIV Infection." J Invest Dermatol 131(3): 794-796.

[00516] Moffatt, M. F., I. G. Gut, et al. (2010). "A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma." N Engl J Med 363(13): 1211-1221.

[00517] Mok, M. Y., F. P. Huang, et al. (2010). "Serum levels of IL-33 and soluble ST2 and their association with disease activity in systemic lupus erythematosus." Rheumatology (Oxford) 49(3): 520-527.

[00518] Neill, D. R., S. H. Wong, et al. (2010). "Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity." Nature 464(7293): 1367-1370.

[00519] Oshikawa, K., K. Kuroiwa, et al. (2001). "Elevated soluble ST2 protein levels in sera of patients with asthma with an acute exacerbation." Am J Respir Crit Care Med 164(2): 277-281.

[00520] Oshikawa, K., K. Kuroiwa, et al. (2001). "Acute eosinophilic pneumonia with increased soluble ST2 in serum and bronchoalveolar lavage fluid." Respir Med 95(6): 532-533.

[00521] Palmer, G., D. Talabot-Ayer, et al. (2009). "Inhibition of interleukin-33 signaling attenuates the severity of experimental arthritis." Arthritis Rheum 60(3): 738-749.

[00522] Pastorelli, L., R. R. Garg, et al. (2010). "Epithelial-derived IL-33 and its receptor ST2 are dysregulated in ulcerative colitis and in experimental Th1/Th2 driven enteritis." Proc Natl Acad Sci U S A 107(17): 8017-8022.

[00523] Plager, D. A., J. C. Kahl, et al. (2010). "Gene transcription changes in asthmatic chronic rhinosinusitis with

nasal polyps and comparison to those in atopic dermatitis." PLoS ONE 5(7): e11450.

[00524] Prefontaine, D., S. Lajoie-Kadoch, et al. (2009). "Increased expression of IL-33 in severe asthma: evidence of expression by airway smooth muscle cells." J Immunol 183(8): 5094-5103.

[00525] Prefontaine, D., J. Nadigel, et al. (2010). "Increased IL-33 expression by epithelial cells in bronchial asthma." J Allergy Clin Immunol 125(3): 752-754.

[00526] Pushparaj, P. N., H. K. Tay, et al. (2009). "The cytokine interleukin-33 mediates anaphylactic shock." Proc Natl Acad Sci U S A 106(24): 9773-9778.

[00527] Reijmerink, N. E., D. S. Postma, et al. (2008). "Association of IL1RL1, IL18R1, and IL18RAP gene cluster polymorphisms with asthma and atopy." J Allergy Clin Immunol 122(3): 651-654 e658.

[00528] Sakashita, M., T. Yoshimoto, et al. (2008). "Association of serum interleukin-33 level and the interleukin-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis." Clin Exp Allergy 38(12): 1875-1881.

[00529] Shah, R. V. and J. L. Januzzi, Jr. (2010). "ST2: a novel remodeling biomarker in acute and chronic heart failure." Curr Heart Fail Rep 7(1): 9-14.

[00530] Shimizu, M., A. Matsuda, et al. (2005). "Functional SNPs in the distal promoter of the ST2 gene are associated with atopic dermatitis." Hum Mol Genet 14(19): 2919-2927.

[00531] Sponheim, J., J. Pollheimer, et al. (2010). "Inflammatory bowel disease-associated interleukin-33 is preferentially expressed in ulceration-associated myofibroblasts." Am J Pathol 177(6): 2804-2815.

[00532] Tajima, S., K. Oshikawa, et al. (2003). "The increase in serum soluble ST2 protein upon acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis." Chest 124(4): 1206-1214.

[00533] Theoharides, T. C., B. Zhang, et al. (2010). "IL-33 augments substance P-induced VEGF secretion from human mast

cells and is increased in psoriatic skin." Proc Natl Acad Sci U S A 107(9): 4448-4453.

[00534] Verri, W. A., Jr., A. T. Guerrero, et al. (2008). "IL-33 mediates antigen-induced cutaneous and articular hypernociception in mice." Proc Natl Acad Sci U S A 105(7): 2723-2728.

[00535] Wu, H., I. Romieu, et al. (2010). "Evaluation of candidate genes in a genome-wide association study of childhood asthma in Mexicans." J Allergy Clin Immunol 125(2): 321-327 e313.

[00536] Xu, D., H. R. Jiang, et al. (2008). "IL-33 exacerbates antigen-induced arthritis by activating mast cells." Proc Natl Acad Sci U S A 105(31): 10913-10918.

[00537] Yanaba, K., A. Yoshizaki, et al. (2011). "Serum IL-33 levels are raised in patients with systemic sclerosis: association with extent of skin sclerosis and severity of pulmonary fibrosis." Clin Rheumatol.

[00538] Zhang, Z.; Zhang, A. and Xiao, G.; "Improved Protein Hydrogen/Deuterium Exchange Mass Spectrometry Platform with Fully Automated Data Processing", *Analytical Chemistry*, 2012, 84(11), 4942-9

[00539] Zhang Z, Smith DL. *Protein Sci.* 1993; 2: 522.

[00540] Engen JR, Smith DL. *Anal. Chem.* 2001; 73: 256A.

[00541] Codreanu SG, Ladner JE, Xiao G, Stourman NV, Hachey DL, Gilliland GL, Armstrong RN. *Biochemistry* 2002; 41: 15161.

[00542] Hamuro Y, Coales SJ, Morrow JA, Molnar KS, Tuske SJ, Southern MR, Griffin PR. *Protein Sci.* 2006; 15: 1.

[00543] Baerga-Ortiz A, Hughes CA, Mandell JG, Komives EA. *Protein Sci.* 2002; 11: 1300.

[00544] Coales, SJ. et al. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2009; 23: 639-647.

[00545] CCP4 (Collaborative Computational Project, No 4. (1994). The CCP4 suite: programs for protein crystallography. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50, 760-763.

[00546] Emsley, P., and Cowtan, K. (2004). Coot: model-

building tools for molecular graphics. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 60, 2126-2132.

[00547] Leslie, A.G.W. (1992). Recent changes to the MOSFLM package for processing film and image plate data Joint CCP4 + ESF-EAMCB Newsletter on Protein Crystallography 26.

[00548] McCoy, A.J., Grosse-Kunstleve, R.W., Adams, P.D., Winn, M.D., Storoni, L.C., and Read, R.J. (2007). Phaser crystallographic software. *Journal of applied crystallography* 40, 658-674.

[00549] Murshudov, G.N., Vagin, A.A., and Dodson, E.J. (1997). Refinement of macromolecular structures by the maximum-likelihood method. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 53, 240-255.

[00550] The PyMOL Molecular Graphics System. Schrödinger, L.

[00551] Baerga-Ortiz, A., C. A. Hughes, J. G. Mandell and E. A. Komives (2002). "Epitope mapping of a monoclonal antibody against human thrombin by H/D-exchange mass spectrometry reveals selection of a diverse sequence in a highly conserved protein." *Protein Sci.* 11(6): 1300-1308.

[00552] Coales, S. J., S. J. Tuske, J. C. Tomasso and Y. Hamuro (2009). "Epitope mapping by amide hydrogen/deuterium exchange coupled with immobilization of antibody, on-line proteolysis, liquid chromatography and mass spectrometry." *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23(5): 639-647.

[00553] Codreanu, S. G., J. E. Ladner, G. Xiao, N. V. Stourman, D. L. Hachey, G. L. Gilliland and R. N. Armstrong (2002). "Local Protein Dynamics and Catalysis: Detection of Segmental Motion Associated with Rate-Limiting Product Release by a Glutathione Transferase." *Biochemistry* 41(51): 15161-15172.

[00554] Engen, J. R. and D. L. Smith (2001). "Investigating protein structure and dynamics by hydrogen exchange MS." *Anal. Chem.* 73(9): 256A-265A.

[00555] Hamuro, Y., S. J. Coales, J. A. Morrow, K. S. Molnar, S. J. Tuske, M. R. Southern and P. R. Griffin (2006).

"Hydrogen/deuterium-exchange (H/D-Ex) of PPAR γ LBD in the presence of various modulators." Protein Sci. 15(8): 1883-1892.

[00556] Zhang, Z. and D. L. Smith (1993). "Determination of amide hydrogen exchange by mass spectrometry: A new tool for protein structure elucidation." Protein Sci. 2(4): 522-531.

[00557] Zhang, Z., A. Zhang and G. Xiao (2012). "Improved Protein Hydrogen/Deuterium Exchange Mass Spectrometry Platform with Fully Automated Data Processing." Analytical Chemistry 84(11): 4942-4949.

СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> AMGEN INC.
 SMITH, Dirk E
 FOLTZ, Ian
 KING, Chadwick T
 LIM, Ai Ching
 CLARK, Rutilio
 COMEAU, Michael R
 KETCHEM, Randal R
 MIN, Xiaoshan
 SHI, Donghui
 WANG, Zhulun

 <120> ST2-Антигенсвязывающие белки

 <130> A-1712-WO-PCT

 <140> - Будет заполнено после присвоения -
 <141> 2013-05-17

 <150> US 61/792,619
 <151> 2013-03-15

 <150> US 61/649,147
 <151> 2012-05-18

 <160> 175

 <170> PatentIn версия 3.5

 <210> 1
 <211> 556
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (78)..(78)
 <223> Хаа в позиции 78 является Glu или Ala

 <400> 1

Met Gly Phe Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Met Tyr Ser Thr
 1 5 10 15

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu
 20 25 30

Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp
 35 40 45

Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg
 50 55 60

Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Xaa Val Ala
 65 70 75 80

Asp	Ser	Gly	Ile	Tyr	Thr	Cys	Ile	Val	Arg	Ser	Pro	Thr	Phe	Asn	Arg	85	90	95
Thr	Gly	Tyr	Ala	Asn	Val	Thr	Ile	Tyr	Lys	Lys	Gln	Ser	Asp	Cys	Asn	100	105	110
Val	Pro	Asp	Tyr	Leu	Met	Tyr	Ser	Thr	Val	Ser	Gly	Ser	Glu	Lys	Asn	115	120	125
Ser	Lys	Ile	Tyr	Cys	Pro	Thr	Ile	Asp	Leu	Tyr	Asn	Trp	Thr	Ala	Pro	130	135	140
Leu	Glu	Trp	Phe	Lys	Asn	Cys	Gln	Ala	Leu	Gln	Gly	Ser	Arg	Tyr	Arg	145	150	155
Ala	His	Lys	Ser	Phe	Leu	Val	Ile	Asp	Asn	Val	Met	Thr	Glu	Asp	Ala	165	170	175
Gly	Asp	Tyr	Thr	Cys	Lys	Phe	Ile	His	Asn	Glu	Asn	Gly	Ala	Asn	Tyr	180	185	190
Ser	Val	Thr	Ala	Thr	Arg	Ser	Phe	Thr	Val	Lys	Asp	Glu	Gln	Gly	Phe	195	200	205
Ser	Leu	Phe	Pro	Val	Ile	Gly	Ala	Pro	Ala	Gln	Asn	Glu	Ile	Lys	Glu	210	215	220
Val	Glu	Ile	Gly	Lys	Asn	Ala	Asn	Leu	Thr	Cys	Ser	Ala	Cys	Phe	Gly	225	230	235
Lys	Gly	Thr	Gln	Phe	Leu	Ala	Ala	Val	Leu	Trp	Gln	Leu	Asn	Gly	Thr	245	250	255
Lys	Ile	Thr	Asp	Phe	Gly	Glu	Pro	Arg	Ile	Gln	Gln	Glu	Glu	Gly	Gln	260	265	270
Asn	Gln	Ser	Phe	Ser	Asn	Gly	Leu	Ala	Cys	Leu	Asp	Met	Val	Leu	Arg	275	280	285
Ile	Ala	Asp	Val	Lys	Glu	Glu	Asp	Leu	Leu	Leu	Gln	Tyr	Asp	Cys	Leu	290	295	300
Ala	Leu	Asn	Leu	His	Gly	Leu	Arg	Arg	His	Thr	Val	Arg	Leu	Ser	Arg	305	310	315
Lys	Asn	Pro	Ile	Asp	His	His	Ser	Ile	Tyr	Cys	Ile	Ile	Ala	Val	Cys	325	330	335

Ser Val Phe Leu Met Leu Ile Asn Val Leu Val Ile Ile Leu Lys Met
340 345 350

Phe Trp Ile Glu Ala Thr Leu Leu Trp Arg Asp Ile Ala Lys Pro Tyr
355 360 365

Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala Tyr Val Val Tyr Pro
370 375 380

Arg Asn Tyr Lys Ser Ser Thr Asp Gly Ala Ser Arg Val Glu His Phe
385 390 395 400

Val His Gln Ile Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Cys Gly Tyr Thr
405 410 415

Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Met Leu Pro Gly Glu Asp Val Val Thr
420 425 430

Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu
435 440 445

Thr Pro Gln Ile Thr His Asn Lys Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val
450 455 460

Ala Leu His Cys Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ala Lys Val Ile Leu Ile
465 470 475 480

Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu
485 490 495

Gln Asp Ser Leu Gln His Leu Met Lys Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp
500 505 510

Arg Glu Asp His Ile Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp
515 520 525

Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Ile Pro Arg Lys
530 535 540

Ala Ser Ser Leu Thr Pro Leu Ala Ala Gln Lys Gln
545 550 555

<210> 2
<211> 570
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Thr Leu Leu Trp Cys Val Val Ser Leu Tyr Phe Tyr Gly Ile Leu

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

260

265

270

Leu Met Asp Ser Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys
 275 280 285

Pro Asp Asp Ile Thr Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His
 290 295 300

Ser Arg Thr Glu Asp Glu Thr Arg Thr Gln Ile Leu Ser Ile Lys Lys
 305 310 315 320

Val Thr Ser Glu Asp Leu Lys Arg Ser Tyr Val Cys His Ala Arg Ser
 325 330 335

Ala Lys Gly Glu Val Ala Lys Ala Ala Lys Val Lys Gln Lys Val Pro
 340 345 350

Ala Pro Arg Tyr Thr Val Glu Leu Ala Cys Gly Phe Gly Ala Thr Val
 355 360 365

Leu Leu Val Val Ile Leu Ile Val Val Tyr His Val Tyr Trp Leu Glu
 370 375 380

Met Val Leu Phe Tyr Arg Ala His Phe Gly Thr Asp Glu Thr Ile Leu
 385 390 395 400

Asp Gly Lys Glu Tyr Asp Ile Tyr Val Ser Tyr Ala Arg Asn Ala Glu
 405 410 415

Glu Glu Glu Phe Val Leu Leu Thr Leu Arg Gly Val Leu Glu Asn Glu
 420 425 430

Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Asp Arg Asp Ser Leu Pro Gly Gly
 435 440 445

Ile Val Thr Asp Glu Thr Leu Ser Phe Ile Gln Lys Ser Arg Arg Leu
 450 455 460

Leu Val Val Leu Ser Pro Asn Tyr Val Leu Gln Gly Thr Gln Ala Leu
 465 470 475 480

Leu Glu Leu Lys Ala Gly Leu Glu Asn Met Ala Ser Arg Gly Asn Ile
 485 490 495

Asn Val Ile Leu Val Gln Tyr Lys Ala Val Lys Glu Thr Lys Val Lys
 500 505 510

Glu Leu Lys Arg Ala Lys Thr Val Leu Thr Val Ile Lys Trp Lys Gly

515

520

525

Glu Lys Ser Lys Tyr Pro Gln Gly Arg Phe Trp Lys Gln Leu Gln Val
 530 535 540

Ala Met Pro Val Lys Lys Ser Pro Arg Arg Ser Ser Ser Asp Glu Gln
 545 550 555 560

Gly Leu Ser Tyr Ser Ser Leu Lys Asn Val
 565 570

<210> 3

<211> 270

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Lys Pro Lys Met Lys Tyr Ser Thr Asn Lys Ile Ser Thr Ala Lys
 1 5 10 15

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

Gln Gln Lys Ala Lys Glu Val Cys Pro Met Tyr Phe Met Lys Leu Arg
 35 40 45

Ser Gly Leu Met Ile Lys Lys Glu Ala Cys Tyr Phe Arg Arg Glu Thr
 50 55 60

Thr Lys Arg Pro Ser Leu Lys Thr Gly Arg Lys His Lys Arg His Leu
 65 70 75 80

Val Leu Ala Ala Cys Gln Gln Gln Ser Thr Val Glu Cys Phe Ala Phe
 85 90 95

Gly Ile Ser Gly Val Gln Lys Tyr Thr Arg Ala Leu His Asp Ser Ser
 100 105 110

Ile Thr Gly Ile Ser Pro Ile Thr Glu Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Thr
 115 120 125

Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu
 130 135 140

Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Glu Lys Lys Asp Lys Val Leu
 145 150 155 160

Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Asn Glu Ser Gly Asp Gly
 165 170 175

Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe
180 185 190

Trp Leu His Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys Cys
195 200 205

Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Met His
210 215 220

Ser Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe Ile
225 230 235 240

Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp Ser Ser Glu
245 250 255

Asn Leu Cys Thr Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Thr
260 265 270

<210> 4

<211> 556

<212> Бeлoк

<213> Macaca fascicularis

<400> 4

Met Gly Leu Trp Ile Leu Ala Ile Leu Thr Ile Leu Val Tyr Ser Thr
1 5 10 15

Ala Ala Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu
20 25 30

Ile Val Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Ser Ser Tyr Ile Val Asp Trp
35 40 45

Tyr Tyr Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg
50 55 60

Val Phe Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Glu Val Ala
65 70 75 80

Asp Ser Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg
85 90 95

Thr Gly Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Pro Asp Cys Asn
100 105 110

Val Pro Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn
115 120 125

Ser Lys Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro
130 135 140

Leu Glu Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Lys
145 150 155 160

Ala His Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Asp Asp Ala
165 170 175

Gly Asp Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr
180 185 190

Ser Val Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu Gln Gly Phe
195 200 205

Ser Arg Phe Pro Val Ile Arg Ala Pro Ala His Asn Glu Thr Lys Glu
210 215 220

Val Glu Ile Gly Glu Asn Thr Asn Leu Thr Cys Ser Ala Cys Phe Gly
225 230 235 240

Lys Gly Ala Gln Phe Leu Ala Thr Val Gln Trp Gln Leu Asn Gly Asn
245 250 255

Lys Ile Thr Asp Phe Ser Glu Pro Arg Ile Gln Gln Glu Glu Gly Gln
260 265 270

Asn Gln Ser Phe Ser Asn Gly Leu Ala Cys Val Asn Thr Val Leu Arg
275 280 285

Ile Ala Asp Val Lys Glu Glu Asp Leu Leu Leu Arg Tyr Asp Cys Leu
290 295 300

Ala Leu Asn Leu His Gly Leu Arg Arg His Thr Ile Arg Leu Ser Arg
305 310 315 320

Lys Asn Pro Ile Asp His Gln Ser Thr Tyr Cys Ile Ile Ala Val Cys
325 330 335

Ser Val Leu Leu Met Leu Ile Asn Ile Leu Val Ile Ile Leu Lys Thr
340 345 350

Phe Trp Ile Glu Ala Thr Leu Leu Trp Arg Asp Ile Ala Lys Pro Tyr
355 360 365

Lys Thr Arg Asn Asp Gly Lys Leu Tyr Asp Ala Tyr Val Ile Tyr Pro
370 375 380

Arg Asn Tyr Thr Ser Ser Ala Asp Gly Ala Ser Arg Val Glu Tyr Phe
385 390 395 400

Val His Gln Ile Leu Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Cys Gly Tyr Thr
405 410 415

Leu Cys Ile Tyr Gly Arg Asp Met Leu Pro Gly Glu Asp Val Val Thr
420 425 430

Ala Val Glu Thr Asn Ile Arg Lys Ser Arg Arg His Ile Phe Ile Leu
435 440 445

Thr Pro Gln Ile Thr His Ser Glu Glu Phe Ala Tyr Glu Gln Glu Val
450 455 460

Ala Leu His Ser Ala Leu Ile Gln Asn Asp Ser Lys Val Ile Leu Ile
465 470 475 480

Glu Met Glu Ala Leu Ser Glu Leu Asp Met Leu Gln Ala Glu Ala Leu
485 490 495

Gln Asp Ser Leu Arg His Leu Met Glu Val Gln Gly Thr Ile Lys Trp
500 505 510

Arg Glu Asp His Val Ala Asn Lys Arg Ser Leu Asn Ser Lys Phe Trp
515 520 525

Lys His Val Arg Tyr Gln Met Pro Val Pro Ser Lys Met Pro Arg Lys
530 535 540

Ala Ser Ser Leu Thr Ser Leu Ala Ala Gln Lys Gln
545 550 555

<210> 5
<211> 570
<212> Белок
<213> Macaca fascicularis

<400> 5

Met Thr Leu Leu Trp Cys Val Val Ser Leu Tyr Phe Tyr Gly Ile Leu
1 5 10 15

Gln Ser Asp Ala Ser Glu Arg Cys Asp Asp Trp Gly Leu Asp Thr Met
20 25 30

Arg Gln Ile Gln Val Phe Glu Asp Glu Pro Ala Arg Ile Lys Cys Pro
35 40 45

Leu Phe Glu His Phe Leu Lys Phe Asn Tyr Ser Thr Ala His Ser Ala
 50 55 60

Gly Leu Thr Leu Ile Trp Tyr Trp Thr Arg Gln Asp Arg Asp Leu Glu
 65 70 75 80

Glu Pro Ile Asn Phe Arg Leu Pro Glu Asn Arg Ile Ser Lys Glu Lys
 85 90 95

Asp Val Leu Trp Phe Arg Pro Thr Leu Leu Asn Asp Thr Gly Asn Tyr
 100 105 110

Thr Cys Met Leu Arg Asn Thr Thr Tyr Cys Ser Lys Val Ala Phe Pro
 115 120 125

Leu Glu Val Val Gln Lys Asp Ser Cys Phe Asn Ser Pro Met Lys Leu
 130 135 140

Pro Val His Lys Leu Tyr Ile Glu Tyr Gly Ile Gln Arg Ile Thr Cys
 145 150 155 160

Pro Asn Val Asp Gly Tyr Phe Pro Ser Ser Val Lys Pro Thr Ile Thr
 165 170 175

Trp Tyr Met Gly Cys Tyr Lys Ile Gln Asn Phe Asn Asn Val Ile Pro
 180 185 190

Glu Gly Met Asn Leu Ser Phe Leu Ile Ala Phe Ile Ser Asn Asn Gly
 195 200 205

Asn Tyr Thr Cys Val Val Thr Tyr Pro Glu Asn Gly Arg Thr Phe His
 210 215 220

Leu Thr Arg Thr Leu Thr Val Lys Val Val Gly Ser Pro Lys Asn Ala
 225 230 235 240

Val Pro Pro Val Ile His Ser Pro Asn Asp His Val Val Tyr Glu Lys
 245 250 255

Glu Pro Gly Glu Glu Leu Leu Ile Pro Cys Thr Val Tyr Phe Ser Phe
 260 265 270

Leu Met Asp Ser Arg Asn Glu Val Trp Trp Thr Ile Asp Gly Lys Lys
 275 280 285

Pro Asp Asp Ile Pro Ile Asp Val Thr Ile Asn Glu Ser Ile Ser His
 290 295 300

Ser	Arg	Thr	Glu	Asp	Glu	Thr	Arg	Thr	Gln	Ile	Leu	Ser	Ile	Lys	Lys	305	310	315	320
Val	Thr	Ser	Glu	Asp	Leu	Lys	Arg	Ser	Tyr	Val	Cys	His	Ala	Arg	Ser		325	330	335
Ala	Lys	Gly	Glu	Val	Ala	Lys	Ala	Ala	Thr	Val	Lys	Gln	Lys	Val	Pro		340	345	350
Ala	Pro	Arg	Tyr	Thr	Val	Glu	Leu	Ala	Cys	Gly	Phe	Gly	Ala	Thr	Val		355	360	365
Leu	Leu	Val	Val	Ile	Leu	Ile	Val	Val	Tyr	His	Val	Tyr	Trp	Leu	Glu		370	375	380
Met	Val	Leu	Phe	Tyr	Arg	Ala	His	Phe	Gly	Thr	Asp	Glu	Thr	Ile	Leu	385	390	395	400
Asp	Gly	Lys	Glu	Tyr	Asp	Ile	Tyr	Val	Ser	Tyr	Ala	Arg	Asn	Ala	Glu		405	410	415
Glu	Glu	Glu	Phe	Val	Leu	Leu	Thr	Leu	Arg	Gly	Val	Leu	Glu	Asn	Glu		420	425	430
Phe	Gly	Tyr	Lys	Leu	Cys	Ile	Phe	Asp	Arg	Asp	Ser	Leu	Pro	Gly	Gly		435	440	445
Ile	Val	Thr	Asp	Glu	Thr	Leu	Ser	Phe	Ile	Gln	Lys	Ser	Arg	Arg	Leu	450	455	460	
Leu	Val	Val	Leu	Ser	Pro	Asn	Tyr	Val	Leu	Gln	Gly	Thr	Gln	Ala	Leu	465	470	475	480
Leu	Glu	Leu	Lys	Ala	Gly	Leu	Glu	Asn	Met	Ala	Ser	Gln	Gly	Asn	Ile		485	490	495
Asn	Val	Ile	Leu	Val	Gln	Tyr	Lys	Ala	Val	Lys	Glu	Thr	Lys	Val	Lys		500	505	510
Glu	Leu	Lys	Arg	Ala	Lys	Thr	Val	Leu	Thr	Val	Ile	Lys	Trp	Lys	Gly		515	520	525
Glu	Lys	Ser	Lys	Tyr	Pro	Gln	Gly	Arg	Phe	Trp	Lys	Gln	Leu	Gln	Val	530	535	540	
Ala	Met	Pro	Val	Lys	Lys	Ser	Pro	Arg	Arg	Ser	Ser	Ser	Asp	Glu	Gln	545	550	555	560

Gly Leu Ser Tyr Ser Ser Leu Lys Asn Val
565 570

<210> 6

<211> 270

<212> Белок

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 6

Met Lys Pro Lys Met Lys Tyr Ser Thr Asn Lys Ile Ser Thr Ala Lys
1 5 10 15

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

Gln Gln Lys Ala Lys Glu Val Cys His Val Tyr Phe Met Lys Leu Arg
35 40 45

Ser Gly Leu Met Ile Lys Lys Glu Ala Cys Tyr Phe Arg Arg Glu Thr
50 55 60

Thr Lys Arg Pro Ser Leu Lys Thr Gly Gly Lys His Lys Gly His Leu
65 70 75 80

Val Leu Ala Ala Cys Gln Gln Gln Ser Thr Val Glu Cys Phe Ala Phe
85 90 95

Gly Ile Ser Gly Val Pro Lys Tyr Thr Arg Ala Leu His Asp Ser Ser
100 105 110

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

Tyr Asn Asp Gln Ser Ile Thr Phe Ala Leu Glu Asp Glu Ser Tyr Glu
130 135 140

Ile Tyr Val Glu Asp Leu Lys Lys Asp Lys Lys Lys Asp Lys Val Leu
145 150 155 160

Leu Ser Tyr Tyr Glu Ser Gln His Pro Ser Ser Glu Ser Gly Asp Gly
165 170 175

Val Asp Gly Lys Met Leu Met Val Thr Leu Ser Pro Thr Lys Asp Phe
180 185 190

Trp Leu Gln Ala Asn Asn Lys Glu His Ser Val Glu Leu His Lys Cys
195 200 205

Glu Lys Pro Leu Pro Asp Gln Ala Phe Phe Val Leu His Asn Arg Ser

210

215

220

Phe Asn Cys Val Ser Phe Glu Cys Lys Thr Asp Pro Gly Val Phe Ile
 225 230 235 240

Gly Val Lys Asp Asn His Leu Ala Leu Ile Lys Val Asp His Ser Glu
 245 250 255

Asn Leu Gly Ser Glu Asn Ile Leu Phe Lys Leu Ser Glu Ile
 260 265 270

<210> 7

<211> 1332

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 7

caggtccaac	tggtacagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctggggcctc	agtgaaggct	60
tcctgcaagg	tttccgata	caccctcact	gaattatcca	tacactgggt	gcgacaggct	120
cctggaaaag	ggcttgagt	gatgggaggt	tttggtcctg	aagatgggtga	aacaatctac	180
gcacagaagt	tccagggcag	agtcaccatg	accgaggaca	catctacaga	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	acggccgtgt	attactgtac	aacagaggat	300
agcagtggcc	tctttgacta	ctggggccag	ggaaccctgg	tcaccgtctc	ctcagctagc	360
accaagggcc	catcggctct	ccccctggcg	ccctgctcca	ggagcacctc	cgagagcaca	420
gcggccctgg	gctgcctgg	caaggactac	ttccccgaac	cggtgacgg	gtcgtggaac	480
tcaggcgctc	tgaccagcgg	cgtgcacacc	ttcccagctg	tcctacagtc	ctcaggactc	540
tactccctca	gcagcgtgg	gaccgtgccc	tccagcaact	tcggcaccca	gacctacacc	600
tgcaacgtag	atcacaagcc	cagcaacacc	aaggtggaca	agacagttga	gcgcaaatgt	660
tgtgtcgagt	gcccacctg	cccagcacca	cctgtggcag	gaccgtcagt	cttcctcttc	720
ccccaaaac	ccaaggacac	cctcatgac	tcccggaccc	ctgaggtcac	gtgctgggtg	780
gtggacgtga	gccacgaaga	ccccgaggtc	cagttcaact	ggtacgtgga	cggcgtggag	840
gtgcataatg	ccaagacaaa	gccacgggag	gagcagttca	acagcacgtt	ccgtgtggtc	900
agcgtcctca	ccgttgtgca	ccaggactgg	ctgaacggca	aggagtacaa	gtgcaaggctc	960
tccaacaaag	gcctcccagc	ccccatcgag	aaaaccatct	ccaaaaccaa	agggcagccc	1020
cgagaaccac	aggtgtacac	cctgccccca	tcccgggagg	agatgaccaa	gaaccaggctc	1080
agcctgacct	gcctgggtcaa	aggcttctac	cccagcgaca	tcgccgtgga	gtgggagagc	1140
aatgggcagc	cggagaacaa	ctacaagacc	acacctccca	tgctggactc	cgacggctcc	1200
ttcttctct	acagcaagct	caccgtggac	aagagcaggt	ggcagcaggg	gaacgtcttc	1260
tcatgctccg	tgatgcatga	ggctctgcac	aaccactaca	cgcagaagag	cctctccctg	1320

tctccgggta aa

1332

<210> 8

<211> 1341

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 8

gaggtgcagc tgggtgcagtc tggagcagag gtgaaaaagc ccggggagtc tctgaagatc	60
tcctgtaagg gttctggata cagctttacc aactactgga tcggctgggt gcgccagatg	120
cccgggaaag gcctggagtg gatggggatc atctatcctg gtaactctga taccagattc	180
agcccgtcct tccaaggcca ggtcaccatc tcagccgaca agtccatcac caccgcctac	240
ctgcagtgga gcagcctgaa ggcctcggac accgccatgt attactgtgc gagacatggg	300
acctcgtccg actactacgg tctggacgtc tggggccaag ggaccacggg caccgtctcc	360
tcagctagca ccaagggccc atcgggtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc	420
gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggtg	480
tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc	540
tcaggactct actccctcag cagcgtgggtg accgtgcctt ccagcaactt cggcaccacg	600
acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag	660
cgcaaatgtt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc	720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
tgctgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggac	840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc	900
cgtgtgggtc gcgtcctcac cgttgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaaacaaaa	1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag	1080
aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cacctcccat gctggactcc	1200
gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg	1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	1320
ctctccctgt ctccgggtaa a	1341

<210> 9

<211> 1344

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 9

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc	60
---	----

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctacgaca tgcactggat cgcceaagct	120
ccaggaaaaa atctggagtg ggtctcagct attgatcttg ctggtgacac atactatcca	180
ggctccgtga agggccgatt caccatctcc agagaagatg ccaagaactc cttgtatctt	240
caaatgaaca gcctgagagc cggggacacg gctgtgtatt actgtgcaag agggggagat	300
ggctacaatt acgactacta cggatatagac gtctggggcc aaggggaccac ggtcacgctc	360
tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg cgccctgctc caggagcacc	420
tccgagagca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg	480
gtgtcgtgga actcaggcgc tctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccagc tgtcctacag	540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcaa cttcggcacc	600
cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagacagtt	660
gagcgcaa at gttgtgtcga gtgcccaccg tgcccagcac cacctgtggc aggaccgtca	720
gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc	780
acgtgctggtg tgggtggacgt gagccacgaa gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg	840
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg aggagcagtt caacagcacg	900
ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgttgtg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac	960
aagtgcaagg tctccaacaa aggcctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaaacc	1020
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc	1080
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct accccagcga catcgccgtg	1140
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacacctcc catgctggac	1200
tccgacggct ctttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag	1260
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag	1320
agcctctccc tgtctccggg taaa	1344

<210> 10
 <211> 1329
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 10	
cagggtccagc tgggtacagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60
tcctgcgagg tttccggatt catcctcact gaattatccg tgaactgggt gcgacaggct	120
cctggaaaag ggcttgagtg gatgggaggt tttgatcctg aagatggtaa aacaatctac	180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccttg accgaggaca catctacaga cacagcctac	240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aacatggtgg	300
gacttttact ttgacttctg gggccaggga accctggtca cgtctctctc agctagcacc	360

aagggcccat cggtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcg	420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca	480
ggcgctctga ccagcggcgt gcacaccttc ccagctgtcc tacagtcttc aggactctac	540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcaacttcg gcacccagac ctacacctgc	600
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga cagttgagcg caaatgttgt	660
gtcgagtgcc caccgtgccc agcaccacct gtggcaggac cgtcagttct cctcttcccc	720
ccaaaacca aggacacct catgatctcc cggacccctg aggtcacgtg cgtggtggtg	780
gacgtgagcc acgaagacct cgaggtccag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg	840
cataatgcca agacaaagcc acgggaggag cagttcaaca gcacgttccg tgtggtcagc	900
gtcctcaccg ttgtgcacca ggactggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc	960
aacaaaggcc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aaaccaaagg gcagccccga	1020
gaaccacagg tgtacacct gcccctatcc cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc	1080
ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat	1140
gggcagccgg agaacaacta caagaccaca cctcccatgc tggactccga cggctccttc	1200
ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca	1260
tgctccgtga tgcattgagg tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct	1320
ccgggtaaa	1329

<210> 11
 <211> 1341
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 11	
gaggtgcagt tgggtggagt tgggggaggc tgggtacagc ctgggggggc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agttatgaca tgtactgggt ccgccaagct	120
acagggaaaag gtctggagtg ggtctcaggt attgatactg ttggggacac atattatcca	180
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagaaaatg ccaagaactc cgtgtatctt	240
caaatgaaca ccctgagagc cggggacacg gctgtgtatt actgtgtaag aggcattctac	300
ggtgactttt attattacgg tttggacgtc tggggccacg ggaccacggt caccgtctcc	360
tcagctagca ccaagggccc atcgggtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc	420
gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg	480
tcgtggaact caggcgtctt gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc	540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcaactt cggcaccacg	600
acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag	660
cgcaaatgtt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc	720

ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	780
tgcggtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggac	840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc	900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgttgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	960
tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaaacaaaa	1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag	1080
aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cacctcccat gctggactcc	1200
gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg	1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	1320
ctctccctgt ctccgggtaa a	1341

<210> 12
 <211> 1344
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 12	
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt acctacgaca tgcactgggt ccgccaaact	120
acaggaaaag gtctggagtg ggtctcagct attgatcttg ctggtgacac atactatcca	180
ggctccgtga agggccgatt caccatctcc agagaagatg ccaagaactc cttgtatott	240
caaatgaaca gcctgagagc cggggacacg gctgtgtatt actgtgcaag agggggagat	300
ggctacaatt acgactacta cggatatagac gtctggggcc aaggggaccac ggtcaccgtc	360
tcctcagcta gcaccaaggg cccatcggtc tccccctgg cgccctgctc caggagcacc	420
tccgagagca cagcggccct gggctgacct gtcaaggact acttccccga accggtgacg	480
gtgtcgtgga actcaggcgc tctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccagc tgtcctacag	540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcaa cttcggcacc	600
cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagacagtt	660
gagcgcaaat gttgtgtcga gtgcccaccg tgcccagcac cacctgtggc aggaccgtca	720
gtcttctctt tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc	780
acgtgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg	840
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg aggagcagtt caacagcacg	900
ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgttgtg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac	960
aagtgcaagg tctccaacaa aggcctccca gccccatcg agaaaaccat ctccaaaacc	1020

aaagggcagc	cccgagaacc	acaggtgtac	accctgcccc	catcccggga	ggagatgacc	1080
aagaaccagg	tcagcctgac	ctgcctggtc	aaaggcttct	accccagcga	catcgccgtg	1140
gagtgggaga	gcaatgggca	gccggagaac	aactacaaga	ccacacctcc	catgctggac	1200
tccgacggct	ccttcttcct	ctacagcaag	ctcaccgtgg	acaagagcag	gtggcagcag	1260
gggaacgtct	tctcatgctc	cgtgatgcat	gaggctctgc	acaaccacta	cacgcagaag	1320
agcctctccc	tgtctccggg	taaa				1344

<210> 13
 <211> 1344
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 13						
gaggtgcagc	tgggtggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctctggatt	caccttcagt	acctacgaca	tgcactgggt	ccgccaaact	120
acaggaaaag	gtctggagtg	ggtctcagct	attgatcttg	ctggtgacac	atactatcca	180
ggctccgtga	aggggccgatt	caccatctcc	agagaagatg	ccaagaactc	cttgtatctt	240
caaatgaaca	gcctgagagc	cggggacacg	gctgtgtatt	actgtgcaag	agggggagat	300
ggctacaatt	acgactacta	cggatatagac	gtctggggcc	aagggaccac	ggtcaccgtc	360
tcctcagcta	gcaccaaggg	cccacggtc	ttccccctgg	cgccctgctc	caggagcacc	420
tccgagagca	cagcggccct	gggctgcctg	gtcaaggact	acttccccga	accggtgacg	480
gtgtcgtgga	actcaggcgc	tctgaccagc	ggcgtgcaca	ccttcccagc	tgtcctacag	540
tcctcaggac	tctactccct	cagcagcgtg	gtgaccgtgc	cctccagcaa	cttcggcacc	600
cagacctaca	cctgcaacgt	agatcacaag	cccagcaaca	ccaaggtgga	caagacagtt	660
gagcgcaaat	gttgtgtcga	gtgccaccg	tgcccagcac	cacctgtggc	aggaccgtca	720
gtcttcctct	ttcccccaaa	acccaaggac	accctcatga	tctcccggac	ccctgaggtc	780
acgtgcgtgg	tgggtggacgt	gagccacgaa	gaccccgagg	tccagttcaa	ctgggtacgtg	840
gacggcgtgg	aggtgcataa	tgccaagaca	aagccacggg	aggagcagtt	caacagcacg	900
ttccgtgtgg	tcagcgtcct	caccgttgtg	caccaggact	ggctgaacgg	caaggagtac	960
aagtgcaagg	tctccaacaa	aggcctccca	gccccatcg	agaaaaccat	ctccaaaacc	1020
aaagggcagc	cccgagaacc	acaggtgtac	accctgcccc	catcccggga	ggagatgacc	1080
aagaaccagg	tcagcctgac	ctgcctggtc	aaaggcttct	accccagcga	catcgccgtg	1140
gagtgggaga	gcaatgggca	gccggagaac	aactacaaga	ccacacctcc	catgctggac	1200
tccgacggct	ccttcttcct	ctacagcaag	ctcaccgtgg	acaagagcag	gtggcagcag	1260
gggaacgtct	tctcatgctc	cgtgatgcat	gaggctctgc	acaaccacta	cacgcagaag	1320
agcctctccc	tgtctccggg	taaa				1344

<210> 14
<211> 1341
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 14
gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctacgaca tgtactgggt ccgccaaagct 120
acaggaaaag gtctggagtg ggtctcagct attgatactg ttggtgacac atactatcca 180
ggctccgtga agggccgatt caccatctcc agagaaaatg ccaagaactc cttgtatctt 240
caaatgaaca gcctgagagt cggggacacg gctgtgtatt actgtgcaag aggcggtgac 300
tacgactact cttattacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
tcagctagca ccaagggccc atcgggtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420
gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc 540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcaactt cggcaccacg 600
acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaaacacca aggtggacaa gacagttgag 660
cgcaaatgtt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc 720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 780
tgctgtggtg tggacgtgag ccacgaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggac 840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc 900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgttgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 960
tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaaacaaaa 1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1080
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cacctcccat gctggactcc 1200
gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320
ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

<210> 15
<211> 1326
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 15
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg gtggaagtca taaatactat	180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaattga acagcctgag agccgaagac acggctgtct attactgtgc gagagacaag	300
ggcgagtttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctcagc tagcaccaag	360
ggcccatcgg tcttccccct ggcgccctgc tccaggagca cctccgagag cacagcggcc	420
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgtg gaactcaggc	480
gctctgacca gcggcgtgca caccttccca gctgtcctac agtcctcagg actctactcc	540
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc aacttcggca cccagacctc cacctgcaac	600
gtagatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagacag ttgagcgcaa atgttggtgc	660
gagtgccac cgtgccagc accacctgtg gcaggaccgt cagtcttctt cttcccccca	720
aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac	780
gtgagccacg aagacccga ggtccagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat	840
aatgccaaga caaagccacg ggaggagcag ttcaacagca cgttccgtgt ggtcagcgtc	900
ctcacggttg tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac	960
aaaggcctcc cagccccat cgagaaaacc atctccaaaa ccaaagggca gccccagaa	1020
ccacaggtgt acacctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg	1080
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg	1140
cagccggaga acaactacaa gaccacacct cccatgctgg actccgacgg ctccttcttc	1200
ctctacagca agctcacctg ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc	1260
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg	1320
ggtaaa	1326

<210> 16
 <211> 1326
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 16	
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct	120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtata ctggaagtaa taaatactat	180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgttgcac	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagataaa	300
gggtactttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctcagc tagcaccaag	360
ggcccatcgg tcttccccct ggcgccctgc tccaggagca cctccgagag cacagcggcc	420

ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc	480
gctctgacca gcggcgtgca caccttccca gctgtcctac agtcctcagg actctactcc	540
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc aacttcggca cccagaccta cacctgcaac	600
gtagatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagacag ttgagcgcaa atgttgtgtc	660
gagtgtccac cgtgtcccagc accacctgtg gcaggaccgt cagtcttcct cttcccccca	720
aaaccaaggg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac	780
gtgagccacg aagaccccg ggtccagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat	840
aatgccaaaga caaagccacg ggaggagcag ttcaacagca cgttccgtgt ggtcagcgtc	900
ctcaccgttg tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac	960
aaaggcctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaaa ccaaagggca gccccagaaa	1020
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg	1080
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg	1140
cagccggaga acaactacaa gaccacacct cccatgctgg actccgacgg ctctctcttc	1200
ctctacagca agctcacctg ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc	1260
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg	1320
ggtaaa	1326

<210> 17
 <211> 1326
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 17	
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggagggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct	120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg gtggaagtca taaatactat	180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaattga acagcctgag agccgaagac acggctgtct attactgtgc gagagacaag	300
ggcgagtttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctcagc tagcaccaag	360
ggcccatcgg tcttccccct ggcgccctgc tccaggagca cctccgagag cacagcggcc	420
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgtcgtg gaactcaggc	480
gctctgacca gcggcgtgca caccttccca gctgtcctac agtcctcagg actctactcc	540
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc aacttcggca cccagaccta cacctgcaac	600
gtagatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagacag ttgagcgcaa atgttgtgtc	660
gagtgtccac cgtgtcccagc accacctgtg gcaggaccgt cagtcttcct cttcccccca	720
aaaccaaggg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac	780

```

gtgagccacg aagaccccgga ggtccagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat      840
aatgccaaga caaagccacg ggaggagcag ttcaacagca cgttccgtgt ggtcagcgtc      900
ctcaccgttg tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac      960
aaaggcctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaaaa ccaaagggca gccccgagaa    1020
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg    1080
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg    1140
cagccggaga acaactacaa gaccacacct cccatgctgg actccgacgg ctcttcttc    1200
ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc    1260
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtctcgg    1320
ggtaaa                                           1326

```

```

<210> 18
<211> 444
<212> Белок
<213> Homo sapiens

```

```
<400> 18
```

```

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 Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
20              25              30

```

```

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

```

```

Gly Gly Phe Gly Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50              55              60

```

```

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp 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

```

```

Thr Thr Glu Asp Ser Ser Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100              105              110

```

```

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

```

```

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

```


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

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

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

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

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

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

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

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

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
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 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
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 Pro Gly Lys
435 440

<210> 19
<211> 447
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 19

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

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

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Arg Phe Ser Pro Ser Phe
50 55 60

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Gly Thr Ser Ser Asp Tyr Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

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

Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val		
			180					185					190				
Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His		
		195					200					205					
Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys		
	210					215					220						
Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val		
225					230					235					240		
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr		
			245						250					255			
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu		
			260					265					270				
Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys		
		275					280					285					
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser		
	290					295					300						
Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys		
305					310					315					320		
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile		
				325					330					335			
Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro		
			340					345					350				
Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu		
		355					360					365					
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn		
	370					375					380						
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser		
385					390					395					400		
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg		
			405						410					415			
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu		
			420					425					430				

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 20

<211> 448

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 20

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Asp Met His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asn Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Asp Leu Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Asn Tyr Asp Tyr Tyr Gly Ile Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

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

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

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

210		215		220
Cys Val Glu Cys Pro	Pro Cys Pro Ala Pro	Pro Val Ala Gly Pro	Ser	
225	230	235	240	
Val Phe Leu Phe	Pro Pro Lys Pro	Lys Asp Thr Leu Met	Ile Ser Arg	
	245	250	255	
Thr Pro Glu Val	Thr Cys Val Val	Val Asp Val Ser His	Glu Asp Pro	
	260	265	270	
Glu Val Gln Phe	Asn Trp Tyr Val	Asp Gly Val Glu	Val His Asn Ala	
	275	280	285	
Lys Thr Lys Pro	Arg Glu Glu Gln Phe	Asn Ser Thr Phe	Arg Val Val	
	290	295	300	
Ser Val Leu Thr	Val Val His Gln	Asp Trp Leu Asn	Gly Lys Glu Tyr	
305	310	315	320	
Lys Cys Lys Val	Ser Asn Lys Gly	Leu Pro Ala Pro	Ile Glu Lys Thr	
	325	330	335	
Ile Ser Lys Thr	Lys Gly Gln Pro	Arg Glu Pro Gln	Val Tyr Thr Leu	
	340	345	350	
Pro Pro Ser Arg	Glu Glu Met Thr	Lys Asn Gln Val	Ser Leu Thr Cys	
	355	360	365	
Leu Val Lys Gly	Phe Tyr Pro Ser	Asp Ile Ala Val	Glu Trp Glu Ser	
	370	375	380	
Asn Gly Gln Pro	Glu Asn Asn Tyr	Lys Thr Thr Pro	Pro Met Leu Asp	
385	390	395	400	
Ser Asp Gly Ser	Phe Phe Leu Tyr	Ser Lys Leu Thr	Val Asp Lys Ser	
	405	410	415	
Arg Trp Gln Gln	Gly Asn Val Phe	Ser Cys Ser Val	Met His Glu Ala	
	420	425	430	
Leu His Asn His	Tyr Thr Gln Lys	Ser Leu Ser Leu	Ser Pro Gly Lys	
	435	440	445	

<210> 21
 <211> 443
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 21

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 Glu Val Ser Gly Phe Ile Leu Thr Glu Leu
20 25 30

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

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Lys Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Trp Trp Asp Phe His Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu
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 Asn
180 185 190

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

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

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

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

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270

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

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

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

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

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

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

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

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385 390 395 400

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

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

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

<210> 22
<211> 447
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 22

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

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

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 23
<211> 448
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 23

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Asp Leu Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
50 55 60

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

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

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

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

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
 385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 24
 <211> 448
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 24

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
 20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Asp Leu Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Asn Tyr Asp Tyr Tyr Gly Ile Asp Val Trp

100					105					110					
Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
		115					120					125			
Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr
	130					135					140				
Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
145					150					155					160
Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
				165					170					175	
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
			180					185					190		
Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp
		195					200					205			
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys
	210					215					220				
Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser
225					230					235					240
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
				245					250					255	
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
			260					265					270		
Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
		275					280					285			
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val
	290					295					300				
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr
305					310					315					320
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr
				325					330					335	
Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu
			340					345					350		
Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys

355

360

365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
 385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 25

<211> 447

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 25

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Asp Thr Val Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Gly Gly Asp Tyr Asp Tyr Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

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

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

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

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

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 26
<211> 442
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 26

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser His Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Lys Gly Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
260 265 270

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

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

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

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

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

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

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

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
405 410 415

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 27
<211> 442
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 27

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Thr Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu His
65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro		
210						215					220						
Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro		
225					230					235					240		
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys		
				245					250					255			
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp		
			260					265					270				
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu		
		275					280					285					
Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val		
	290					295					300						
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn		
305					310					315					320		
Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly		
				325					330					335			
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu		
			340					345					350				
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr		
		355					360					365					
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn		
	370					375					380						
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe		
385					390					395					400		
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn		
				405				410						415			
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr		
			420					425					430				
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys								
	435						440										

<210> 28
 <211> 442
 <212> Бeлoк
 <213> Homo sapiens

<400> 28

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser His Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Lys Gly Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

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

				245				250				255			
Val	Val	Val	Asp 260	Val	Ser	His	Glu	Asp 265	Pro	Glu	Val	Gln	Phe 270	Asn	Trp
Tyr	Val	Asp 275	Gly	Val	Glu	Val	His 280	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys 285	Pro	Arg	Glu
Glu	Gln 290	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe 295	Arg	Val	Val	Ser	Val 300	Leu	Thr	Val	Val
His 305	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn 310	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys 315	Cys	Lys	Val	Ser	Asn 320
Lys	Gly	Leu	Pro	Ala 325	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr 330	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys 335	Gly
Gln	Pro	Arg	Glu 340	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr 345	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg 350	Glu	Glu
Met	Thr	Lys 355	Asn	Gln	Val	Ser	Leu 360	Thr	Cys	Leu	Val	Lys 365	Gly	Phe	Tyr
Pro	Ser 370	Asp	Ile	Ala	Val	Glu 375	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly 380	Gln	Pro	Glu	Asn
Asn 385	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro 390	Pro	Met	Leu	Asp	Ser 395	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe 400
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu 405	Thr	Val	Asp	Lys	Ser 410	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly 415	Asn
Val	Phe	Ser	Cys 420	Ser	Val	Met	His	Glu 425	Ala	Leu	His	Asn	His 430	Tyr	Thr
Gln	Lys	Ser 435	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro 440	Gly	Lys						
<210>		29													
<211>		118													
<212>		Белок													
<213>		Homo sapiens													
<400>		29													
Gln 1	Val	Gln	Leu	Val 5	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu 10	Val	Lys	Lys	Pro	Gly 15	Ala
Ser	Val	Lys	Val 20	Ser	Cys	Lys	Val	Ser 25	Gly	Tyr	Thr	Leu	Thr 30	Glu	Leu

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

Gly Gly Phe Gly Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp 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

Thr Thr Glu Asp Ser Ser Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 30
<211> 121
<212> Бeлoк
<213> Homo sapiens

<400> 30

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

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

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

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Arg Phe Ser Pro Ser Phe
50 55 60

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

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Gly Thr Ser Ser Asp Tyr Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 31
<211> 122
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 31

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Asp Met His Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asn Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Asp Leu Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Asn Tyr Asp Tyr Tyr Gly Ile Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 32
<211> 117
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 32

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 Glu Val Ser Gly Phe Ile Leu Thr Glu Leu
20 25 30

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

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Lys Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp 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	Thr	Trp	Trp	Asp	Phe	His	Phe	Asp	Phe	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100					105					110		

Val	Thr	Val	Ser	Ser
		115		

<210> 33
 <211> 120
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 33

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Trp	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		

Asp	Met	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Thr	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			

Ser	Gly	Ile	Asp	Thr	Val	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	Lys
	50					55					60				

Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Glu	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Val	Tyr	Leu
65					70					75					80

Gln	Met	Asn	Thr	Leu	Arg	Ala	Gly	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Val
				85					90					95	

Arg	Gly	Ile	Tyr	Gly	Asp	Phe	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Asp	Val	Trp	Gly
			100					105					110		

His	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser
		115					120

<210> 34
 <211> 122
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 34

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Asp Leu Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Asn Tyr Asp Tyr Tyr Gly Ile Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 35
<211> 122
<212> Бeлoк
<213> Homo sapiens

<400> 35

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Asp Leu Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asp Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Asn Tyr Asp Tyr Tyr Gly Ile Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 36
<211> 121
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 36

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Asp Thr Val Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Val Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Gly Gly Asp Tyr Asp Tyr Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 37
<211> 116
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 37

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser His Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Lys Gly Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 38
<211> 116
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 38

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Thr Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu His
65 70 75 80

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 39
<211> 116
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 39

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Tyr Gly Gly Ser His Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Lys Gly Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 40
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens
 <400> 40
 Glu Leu Ser Ile His
 1 5
 <210> 41
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens
 <400> 41
 Asn Tyr Trp Ile Gly
 1 5
 <210> 42
 <211> 5
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens
 <400> 42
 Thr Tyr Asp Met His
 1 5

<210> 43
<211> 5
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 43

Glu Leu Ser Val Asn
1 5

<210> 44
<211> 5
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 44

Ser Tyr Asp Met Tyr
1 5

<210> 45
<211> 5
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 45

Thr Tyr Asp Met His
1 5

<210> 46
<211> 5
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 46

Thr Tyr Asp Met His
1 5

<210> 47
<211> 5
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 47

Ser Tyr Asp Met Tyr
1 5

<210> 48
<211> 5
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 48

Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 49
<211> 5
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 49

Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 50
<211> 5
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 50

Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 51
<211> 17
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 51

Gly Phe Gly Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 52
<211> 17
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 52

Ile Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Asp Thr Arg Phe Ser Pro Ser Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 53
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 53

Ala Ile Asp Leu Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 54
<211> 17
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 54

Gly	Phe	Asp	Pro	Glu	Asp	Gly	Lys	Thr	Ile	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 55
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 55

Gly	Ile	Asp	Thr	Val	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	Lys	Gly
1				5					10					15	

<210> 56
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 56

Ala	Ile	Asp	Leu	Ala	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Gly	Ser	Val	Lys	Gly
1				5					10					15	

<210> 57
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 57

Ala	Ile	Asp	Leu	Ala	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Gly	Ser	Val	Lys	Gly
1				5					10					15	

<210> 58
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 58

Ala	Ile	Asp	Thr	Val	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Gly	Ser	Val	Lys	Gly
1				5					10					15	

<210> 59
<211> 17
<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 59

Val	Ile	Trp	Tyr	Gly	Gly	Ser	His	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 60

<211> 17

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 60

Val	Ile	Trp	Tyr	Thr	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 61

<211> 17

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 61

Val	Ile	Trp	Tyr	Gly	Gly	Ser	His	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 62

<211> 9

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 62

Glu	Asp	Ser	Ser	Gly	Leu	Phe	Asp	Tyr
1				5				

<210> 63

<211> 12

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 63

His	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Asp	Val
1				5					10		

<210> 64
<211> 14
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 64

Gly Gly Asp Gly Tyr Asn Tyr Asp Tyr Tyr Gly Ile Asp Val
1 5 10

<210> 65
<211> 8
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 65

Trp Trp Asp Phe His Phe Asp Phe
1 5

<210> 66
<211> 13
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 66

Gly Ile Tyr Gly Asp Phe Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
1 5 10

<210> 67
<211> 14
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 67

Gly Gly Asp Gly Tyr Asn Tyr Asp Tyr Tyr Gly Ile Asp Val
1 5 10

<210> 68
<211> 14
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 68

Gly Gly Asp Gly Tyr Asn Tyr Asp Tyr Tyr Gly Ile Asp Val
1 5 10

<210> 69
<211> 13
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 69

Gly Gly Asp Tyr Asp Tyr Ser Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 70
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 70

Asp Lys Gly Glu Phe Asp Tyr
1 5

<210> 71
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 71

Asp Lys Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 72
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 72

Asp Lys Gly Glu Phe Asp Tyr
1 5

<210> 73
<211> 660
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 73

gacctcgtga	tgaccagtc	tccagactcc	ctggctgtgt	ctccgggcga	gagggccact	60
atcaactgca	agtccagcca	gagtcctttta	tacagctcca	acaataagga	ctacttagct	120
tggtaccagc	agaagccggg	acagcctcct	aaactgctca	tttactgggc	atctaccogg	180
gaatccgggg	tccctgaccg	attcagtggc	agcgggtctg	ggacagattt	cactctcacc	240
atcagcagcc	tgcaggctga	agatgtggca	gtttattact	gtcaccaata	ttataatact	300
ccgtggacgt	tcggccaagg	gaccaaggtg	gaaatcaaac	gtacggtggc	tgcaccatct	360
gtcttcatct	tcccgccatc	tgatgagcag	ttgaaatctg	gaactgcctc	tgttgtgtgc	420
ctgctgaata	acttctatcc	cagagaggcc	aaagtacagt	ggaaggtgga	taacgccttc	480
caatcgggta	actcccagga	gagtgtcaca	gagcaggaca	gcaaggacag	cacctacagc	540
ctcagcagca	ccctgacgct	gagcaaagca	gactacgaga	aacacaaagt	ctacgcctgc	600
gaagtcaccc	atcagggcct	gagctcgccc	gtcacaaaga	gcttcaacag	gggagagtgt	660

<210> 74
<211> 642
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 74
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggcgagtc ggacattagt aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatattg caacatatta ctgtcaacag gatgataatt tccctctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa acgtacggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 75
<211> 654
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 75
gatattgtaa tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtgatg gataccacta tttggattgg 120
tacctgcaga agccaggga gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcggggc 180
tccgggggtcc ctgacagggt cactggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc 240
agcagagtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaattctc 300
actttcggcg gagggaccaa ggtggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540
agcacctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgt 654

<210> 76
<211> 657
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 76

gattttgtga tgacccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc	60
atctcctgta agtctagtca gagcctcctg catagtaatg gaaagaccta tttgtattgg	120
ttcctgcaga agccaggcca gcctccacaa ctctgatct atgaagtttc caaccggttc	180
tctggagtgc cagatagggt cagtggcagc gggtcaggga cagatttcac actgaaaatc	240
agccgggtgg aggctgagga tgttggggtt tattactgca tgcaaagtat acagcttctc	300
ctcactttcg gcggagggaac caagggtggag atcaaacgta cgggtggctgc accatctgtc	360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcttg	420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa	480
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa	600
gtcacccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt	657

<210> 77
 <211> 654
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 77 gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc	60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg tatagtgatg gaaacaacta tttggattgg	120
tacctgcaga agccagggca gtctccacac ctctgatct atttgggttc taatcggggc	180
tccgggggtcc ctgacagggt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaatc	240
agcagagtgg aggctgacga tgttggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactctc	300
actttcggcg gagggaccaa ggtggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc	360
atcttcccg cactgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg	420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg	480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc	540
agcacctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc	600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgt	654

<210> 78
 <211> 654
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 78 gatattgtaa tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc	60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtgatg gatatacta tttggattgg	120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcggggc	180

tccgggggtcc ctgacagggtt cagtggcagt ggatcaggca cagatttttac actgaacatc	240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactctc	300
actttcggcg gagggaccaa ggtggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc	360
atcttcccg ccatctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg	420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg	480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc	540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc	600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgt	654

<210> 79
 <211> 654
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 79	
gatattgtaa tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc	60
atctcctgca ggtctagtca gagcctcctg catagtgatg gatatacta tttggattgg	120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggccc	180
tccgggggtcc ctgacagggtt cagtggcagt ggatcaggca cagatttttac actgaacatc	240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactctc	300
actttcggcg gagggaccaa ggtggagatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc	360
atcttcccg ccatctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg	420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg	480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc	540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc	600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgt	654

<210> 80
 <211> 654
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 80	
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc	60
atctcctgta ggtctggtca gagcctcctg catagtgatg gatacaacta tttggattgg	120
tacctgcaga agccagggca gtctccacag ctctgatct atttgggttc taatcgggccc	180
tccgggggtcc ctgacagggtt cagtggcagt ggatcaggca cagatttttac actgaaaatc	240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaagctct acaaactatc	300
accttcggcc aagggacacg actggagatt aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc	360

atcttccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg	420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtgggaagg tggataacgc cctccaatcg	480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc	540
agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc	600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgt	654

<210> 81
 <211> 645
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 81	
gaaattgtga tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagccact taggctggta tcagcagaaa	120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca acagggccac tggcatccca	180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag caaactggag	240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gctcacctg gacgttcggc	300
caagggacca aggtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420
tatcccagag aggccaaagt acagtgggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc	480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctcg	540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag	600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt	645

<210> 82
 <211> 645
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 82	
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc	60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagt agcagccact tagcctggta tcagcagaaa	120
cctggccaga ctcccagggt cctcatctat gctgcatcca gcagggccac cggcatccca	180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag	240
cctgaggatt ttgcagtgtt ttactgtcag cagtatggta gctcacctg gacgttcggc	300
caagggacca aggtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg	360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc	420
tatcccagag aggccaaagt acagtgggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc	480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctcg	540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 83
 <211> 645
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 83
 gaaattgtga tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagccact taggctggta tcagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag caaactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcacctg gacgttcggc 300
 caagggacca aggtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 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 cacccatcag 600
 ggctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 84
 <211> 220
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 84

Asp Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asp Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

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

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln
 85 90 95

Tyr Tyr Asn Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

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

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

<210> 85
<211> 214
<212> Бeлoк
<213> Homo sapiens

<400> 85

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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Asp Asn Phe Pro Leu
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 86
 <211> 218
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 86

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Asp Gly Tyr His Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95

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

100	105	110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln		
115	120	125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr		
130	135	140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser		
145	150	155
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr		
165	170	175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys		
180	185	190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro		
195	200	205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	
<210> 87		
<211> 219		
<212> Белок		
<213> Homo sapiens		
<400> 87		
Asp Phe Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly		
1	5	10
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser		
20	25	30
Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro		
35	40	45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro		
50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser		
85	90	95
Ile Gln Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100	105	110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

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

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 88
<211> 218
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 88

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro His Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Asp Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

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

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 89
<211> 218
<212> Бeлoк
<213> Homo sapiens

<400> 89

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asp Gly Tyr His Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

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

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 90
 <211> 218
 <212> Бeлoк
 <213> Homo sapiens

<400> 90

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Asp Gly Tyr His Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95

Leu Gln Thr Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115

120

125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 91
 <211> 218
 <212> Бeлoк
 <213> Homo sapiens

<400> 91

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Gly Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Asp Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95

Leu Gln Thr Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

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

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 92
<211> 215
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 92

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

His Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Lys Leu Glu
65 70 75 80

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

Trp Thr Phe Gly Gln 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

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> 93
<211> 215
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 93

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

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

Trp Thr Phe Gly Gln 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

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> 94
 <211> 215
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 94

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30

His Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Lys Leu Glu
 65 70 75 80

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

Trp Thr Phe Gly Gln 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

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> 95
 <211> 114
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 95

Asp Leu Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asp Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

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

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln
 85 90 95

Tyr Tyr Asn Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110

Lys Arg

<210> 96
 <211> 108

<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 96

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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Asp Asn Phe Pro Leu
85 90 95

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

<210> 97
<211> 112
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 97

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asp Gly Tyr His Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Ile Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 98
<211> 113
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 98

Asp Phe Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser
85 90 95

Ile Gln Leu Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg

<210> 99
<211> 112
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 99

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro His Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Asp Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 100
<211> 112
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 100

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asp Gly Tyr His Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 101
<211> 112
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 101

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asp Gly Tyr His Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 102
<211> 112
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 102

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Gly Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asp Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 103
<211> 109
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 103

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

His Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Lys Leu Glu
65 70 75 80

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

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 104
<211> 109
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 104

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

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

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 105
<211> 109
<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 105

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

His Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Lys Leu Glu
65 70 75 80

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

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 106

<211> 17

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 106

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asp Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 107

<211> 11

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 107

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 108

<211> 16

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 108

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Tyr His Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 109
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 109

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 110
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 110

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asp Gly Asn Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 111
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 111

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Tyr His Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 112
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 112

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Tyr His Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 113
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 113

Arg Ser Gly Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 114
<211> 12
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 114

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser His Leu Gly
1 5 10

<210> 115

<211> 12

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 115

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser His Leu Ala
1 5 10

<210> 116

<211> 12

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 116

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser His Leu Gly
1 5 10

<210> 117

<211> 7

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 117

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 118

<211> 7

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 118

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 119

<211> 7

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<400> 119

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 120

<211> 7

<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 120

Glu Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 121
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 121

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 122
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 122

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 123
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 123

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 124
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 124

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 125
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 125

Gly Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 126
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 126

Ala Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 127
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 127

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 128
<211> 9
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 128

His Gln Tyr Tyr Asn Thr Pro Trp Thr
1 5

<210> 129
<211> 9
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 129

Gln Gln Asp Asp Asn Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 130
<211> 8
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 130

Met Gln Ala Leu Gln Ile Leu Thr
1 5

<210> 131
<211> 9
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 131

Met Gln Ser Ile Gln Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 132
<211> 8
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 132

Met Gln Ala Leu Gln Thr Leu Thr
1 5

<210> 133
<211> 8
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 133

Met Gln Ala Leu Gln Thr Leu Thr
1 5

<210> 134
<211> 8
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 134

Met Gln Ala Leu Gln Thr Leu Thr
1 5

<210> 135
<211> 8
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 135

Met Gln Ala Leu Gln Thr Ile Thr
1 5

<210> 136
<211> 9
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 136

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 137
<211> 9
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 137

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 138
<211> 9
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 138

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 139
<211> 1335
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 139
caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtacag cgtctggatt caccttcagt agccatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacaatt atatggtttg atggaaataa taaatactat 180
gcagactccg tggagggccg cttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgttt 240
ctgcaaatac acagcctgag agccgaggac acggctgtct attactgtgc gagagagggg 300
gcggaacagg ggttcacgca tctctggggc cgtggcaccc tgggtcactgt ctctcagct 360
agcaccaagg gcccatcggc cttccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc 420
acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480
aactcaggcg ctctgaccag cggcgtgcac accttcccag ctgtcctaca gtctcagga 540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca acttcggcac ccagacctac 600
acctgcaacg tagatcacia gccagcaac accaaggctg acaagacagt tgagcgcaaa 660
tggtgtgtcg agtgcccacc gtgcccagca ccacctgtgg caggaccgtc agtcttcctc 720
ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctcccga cccctgaggt cacgtgctgt 780
gtggtggacg tgagccacga agaccccgag gtccagttca actggtacgt ggacggcgtg 840
gaggtgcata atgccaagac aaagccacgg gaggagcagt tcaacagcac gttccgtgtg 900
gtcagcgtcc tcaccgttgt gcaccaggac tggctgaacg gcaaggagta caagtgaag 960
gtctccaaca aaggcctccc agccccatc gagaaaacca tctccaaaac caaagggcag 1020
ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccattcccgg aggagatgac caagaaccag 1080
gtcagcctga cctgcctggc caaaggcttc taccacagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacacctc ccatgctgga ctccgacggc 1200
tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1320

ctgtctccgg gtaaa

1335

<210> 140

<211> 1347

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 140

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacaac ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt accttcgaca tgcactgggt ccgccaagct 120

acaggaaaag gtctggagtg ggtctcaagt attgatactg aaggagacac atactattca 180

ggctccgtga agggccgatt caccatctcc agagaaaatg ccaggaactc cttgtatctt 240

caaatgaaca gcctgagagc cggggacacg gctgtgtatt actgtacaag aggcgaggac 300

tggagcgacg acgactacta ctacggtttg gacgtctggg gccaaaggac cacggtcacc 360

gtctcctcag ctagcaccaa gggcccatcg gtcttcccc ttggcgccctg ctccaggagc 420

acctccgaga gcacagcggc cctgggctgc ctgggtcaagg actacttccc cgaaccgggtg 480

acgggtgtcgt ggaactcagg cgctctgacc agcggcgtgc acaccttccc agctgtccta 540

cagtctcag gactctactc cctcagcagc gtgggtgaccg tgccctccag caacttcggc 600

accagacct acacctgcaa cgtagatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaca 660

gttgagcgca aatgttgtgt cgagtgccca ccgtgccag caccacctgt ggcaggaccg 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaaccaag gacacctca tgatctcccg gaccctgag 780

gtcacgtgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccccg aggtccagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccac gggaggagca gttcaacagc 900

acgttccgtg tggtcagcgt cctcacctgt gtgcaccagg actggctgaa cggcaaggag 960

tacaagtgca aggtctccaa caaaggcctc ccagcccca tcgagaaaac catctccaaa 1020

accaaagggc agccccgaga accacaggtg tacacctgc ccccatcccg ggaggagatg 1080

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctaccccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacacc tcccatgctg 1200

gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320

aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1347

<210> 141

<211> 1347

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<400> 141

gaggtgcaac tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tctctgtgcag	cctcttgatt	caccttcagt	accttcgaca	tgcactgggt	ccgccaagtt	120
ccaggaaaag	gtctggagtg	gatctcaagt	attgatactg	aaggagacac	atactatcca	180
ggctccgtga	agggccgatt	caccatctcc	agagaaaatg	ccaggaaactc	cttgtatctt	240
caaatgaaca	gcctgagagc	cggggacacg	gctgtgtatt	actgtacaag	aggcgaggac	300
tggagcgacg	acgactacta	ctacggtttg	gacgtctggg	gccaaaggac	cacggtcacc	360
gtctcctcag	ctagcaccaa	gggcccacg	gtcttcccc	tggcgccctg	ctccaggagc	420
acctccgaga	gcacagcggc	cctgggctgc	ctgggtcaagg	actacttccc	cgaaccggtg	480
acggtgtcgt	ggaactcagg	cgctctgacc	agcggcgtgc	acaccttccc	agctgtccta	540
cagtccctcag	gactctactc	cctcagcagc	gtggtgaccg	tgccctccag	caacttcggc	600
accagacct	acacctgcaa	cgtagatcac	aagcccagca	acaccaaggt	ggacaagaca	660
gttgagcgca	aatgttgtgt	cgagtgccca	ccgtgcccag	caccacctgt	ggcaggaccg	720
tcagtcttcc	tcttcccccc	aaaaccceaag	gacaccctca	tgatctcccc	gacccctgag	780
gtcacgtgcg	tgggtggtgga	cgtgagccac	gaagaccccg	aggtccagtt	caactggtac	840
gtggacggcg	tggaggtgca	taatgccaaag	acaaagccac	gggaggagca	gttcaacagc	900
acgttccgtg	tggtcagcgt	cctcaccggt	gtgcaccagg	actggctgaa	cggcaaggag	960
tacaagtgca	aggtcttcaa	caaaggcctc	ccagccccca	tcgagaaaac	catctccaaa	1020
accaaagggc	agccccgaga	accacaggtg	tacaccctgc	ccccatcccc	ggaggagatg	1080
accaagaacc	aggtcagcct	gacctgcctg	gtcaaaggct	tctaccccag	cgacatcgcc	1140
gtggagtggg	agagcaatgg	gcagccggag	aacaactaca	agaccacacc	tcccatgctg	1200
gactccgacg	gctccttctt	cctctacagc	aagctcaccg	tggacaagag	caggtggcag	1260
caggggaacg	tcttctcatg	ctccgtgatg	catgaggctc	tgcacaacca	ctacacgcag	1320
aagagcctct	ccctgtctcc	gggtaaa				1347

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 143
<211> 449
<212> Бeлoк
<213> Homo sapiens

<400> 143

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Asp Thr Glu Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Gly	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	85	90	95
Arg	Gly	Glu	Asp	Trp	Ser	Asp	Asp	Asp	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Asp	Val	100	105	110
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	115	120	125
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	130	135	140
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	145	150	155
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	165	170	175
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	180	185	190
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	195	200	205
Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	210	215	220
Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	225	230	235
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	245	250	255
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	260	265	270
Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	275	280	285
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	290	295	300
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	305	310	315
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	325	330	335

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

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

<210> 144
 <211> 449
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 144

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
 20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Ser Ser Ile Asp Thr Glu Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr Leu
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
 85 90 95

Arg Gly Glu Asp Trp Ser Asp Asp Asp Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val

	100						105						110			
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	
		115					120					125				
Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	
	130					135					140					
Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	
145					150					155					160	
Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	
				165					170					175		
Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	
			180					185					190			
Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	
		195					200					205				
Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	
	210					215					220					
Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	
225					230				235						240	
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	
				245					250					255		
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	
			260					265					270			
Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	
		275					280					285				
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	
	290					295					300					
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	
305					310					315					320	
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	
				325					330					335		
Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
			340					345					350			
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	

355

360

365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

Lys

<210> 145
 <211> 119
 <212> Бeлoк
 <213> Homo sapiens

<400> 145

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
 20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Thr Ile Ile Trp Phe Asp Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
 65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Ala Glu Gln Gly Phe Ile Asp Leu Trp Gly Arg Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 146
<211> 123
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 146

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Asp Thr Glu Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
85 90 95

Arg Gly Glu Asp Trp Ser Asp Asp Asp Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 147
<211> 123
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 147

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Phe
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Ser Ser Ile Asp Thr Glu Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Arg Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
85 90 95

Arg Gly Glu Asp Trp Ser Asp Asp Asp Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 148
<211> 5
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 148

Ser His Gly Met His
1 5

<210> 149
<211> 5
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 149

Thr Phe Asp Met His
1 5

<210> 150
<211> 5
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 150

Thr Phe Asp Met His
1 5

<210> 151
<211> 17
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 151

Ile Ile Trp Phe Asp Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 152
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 152

Ser	Ile	Asp	Thr	Glu	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Ser	Val	Lys	Gly
1				5				10						15	

<210> 153
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 153

Ser	Ile	Asp	Thr	Glu	Gly	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Pro	Gly	Ser	Val	Lys	Gly
1				5				10						15	

<210> 154
<211> 10
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 154

Glu	Gly	Ala	Glu	Gln	Gly	Phe	Ile	Asp	Leu
1			5					10	

<210> 155
<211> 15
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 155

Gly	Glu	Asp	Trp	Ser	Asp	Asp	Asp	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Asp	Val
1			5					10					15	

<210> 156
<211> 15
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 156

Gly	Glu	Asp	Trp	Ser	Asp	Asp	Asp	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Asp	Val
1			5					10					15	

<210> 157
<211> 642
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 157
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc aggcgagtca ggacattagc aactatttaa attggtatca ccagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca	180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat tttactttca ccatcagcgg cctgcagcct	240
gaagatattg caacatatta ctgtcaacag catgataatc tcccgcacac tttcggcgga	300
gggaccaagg tggagatcaa gcgaacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccggca	360
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgtttgtg gcctgctgaa taacttctat	420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag	480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg	540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc	600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt	642

<210> 158
 <211> 654
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 158	
aatattgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc	60
atctcctgca agtctagtca gagcctcctg catagtgatg gaaagaccta tttattttgg	120
tacctgcaga agccaggcca gcctccacag ctctgatct atggagtttc caaccggttc	180
tctggagtgc cagatagggt cagtggcagc gggtcaggga cagatttcac actgaaaatc	240
agccgggtgg aggctgaaga tggtggggtt tattactgca tgcaaagttt acagctattc	300
actttcggcc ctgggaccaa agtggagatc aagcgaacgg tggtgcacc atctgtcttc	360
atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg	420
aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg	480
ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc	540
agcacctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc	600
acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgt	654

<210> 159
 <211> 657
 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens

<400> 159	
aatattgtga tgaccagac tccactctct ctgtccgtca cccctggaca gccggcctcc	60
atctcctgca agtctagtca gagcctcctg catagtgatg gaaagaccta tttattttgg	120
tacctgcaga agccaggcca gcctccacag ctctgatct atggagtttc caaccggttc	180
tctggagtgc cagatagggt cagtggcagc gggtcaggga cagatttcac actgaaaatc	240
agccgggtgg aggctgaaga tggtggggtt tattcctgca tgcaaagttt acagctattc	300

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 161
<211> 218
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 161

Asn Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Phe Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser
85 90 95

Leu Gln Leu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105 110

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

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 162
 <211> 219
 <212> Белок
 <213> Homo sapiens

<400> 162

Asn Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Phe Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro
 35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Ser Cys Met Gln Ser
 85 90 95

Leu Gln Leu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
 100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

180

185

190

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

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 163
 <211> 108
 <212> Бeлoк
 <213> Homo sapiens

<400> 163

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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu
 85 90 95

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

<210> 164
 <211> 108
 <212> Бeлoк
 <213> Homo sapiens

<400> 164

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 Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr His Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu
85 90 95

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

<210> 165
<211> 113
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 165

Asn Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Phe Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro
35 40 45

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Ser Cys Met Gln Ser
85 90 95

Leu Gln Leu Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg
100 105 110

Arg

<210> 166
<211> 11
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 166

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 167
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 167

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Phe
1 5 10 15

<210> 168
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 168

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Phe
1 5 10 15

<210> 169
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 169

Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 170
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 170

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 171
<211> 7
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 171

Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 172
<211> 9
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 172

Gln Gln His Asp Asn Leu Pro Leu Thr
1 5

<210> 173
<211> 8
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 173

Met Gln Ser Leu Gln Leu Phe Thr
1 5

<210> 174
<211> 8
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 174

Met Gln Ser Leu Gln Leu Phe Thr
1 5

<210> 175
<211> 187
<212> Белок
<213> Homo sapiens

<400> 175

Lys Phe Ser Lys Gln Ser Trp Gly Leu Glu Asn Glu Ala Leu Ile Val
1 5 10 15

Arg Cys Pro Arg Gln Gly Lys Pro Ser Tyr Thr Val Asp Trp Tyr Tyr
20 25 30

Ser Gln Thr Asn Lys Ser Ile Pro Thr Gln Glu Arg Asn Arg Val Phe
35 40 45

Ala Ser Gly Gln Leu Leu Lys Phe Leu Pro Ala Glu Val Ala Asp Ser
50 55 60

Gly Ile Tyr Thr Cys Ile Val Arg Ser Pro Thr Phe Asn Arg Thr Gly
65 70 75 80

Tyr Ala Asn Val Thr Ile Tyr Lys Lys Gln Ser Asp Cys Asn Val Pro
85 90 95

Asp Tyr Leu Met Tyr Ser Thr Val Ser Gly Ser Glu Lys Asn Ser Lys
100 105 110

Ile Tyr Cys Pro Thr Ile Asp Leu Tyr Asn Trp Thr Ala Pro Leu Glu
115 120 125

Trp Phe Lys Asn Cys Gln Ala Leu Gln Gly Ser Arg Tyr Arg Ala His
130 135 140

Lys Ser Phe Leu Val Ile Asp Asn Val Met Thr Glu Asp Ala Gly Asp
145 150 155 160

Tyr Thr Cys Lys Phe Ile His Asn Glu Asn Gly Ala Asn Tyr Ser Val
165 170 175

Thr Ala Thr Arg Ser Phe Thr Val Lys Asp Glu
180 185

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, содержащий:

а) вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165;

б) вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147; или

с) вариабельный домен легкой цепи согласно а) и вариабельный домен тяжелой цепи согласно б).

2. ST2-антигенсвязывающий белок по п.1, отличающийся тем, что вариабельный домен легкой цепи является по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165.

3. ST2-антигенсвязывающий белок по п.1 или 2, отличающийся тем, что вариабельный домен тяжелой цепи является по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147.

4. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, содержащий:

а) вариабельный домен легкой цепи, содержащий не более десяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID

NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165;

b) переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147; или

c) переменный домен легкой цепи согласно a) и переменный домен тяжелой цепи согласно b).

5. ST2-антигенсвязывающий белок по п.4, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165.

6. ST2-антигенсвязывающий белок по п.4 или 5, отличающийся тем, что переменный домен тяжелой цепи содержит не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147.

7. ST2-антигенсвязывающий белок по пп.1-6, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165.

8. ST2-антигенсвязывающий белок по пп.1-7, отличающийся тем, что переменный домен тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID

NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147.

9. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, содержащий:
вариабельный домен легкой цепи, содержащий:

a) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:106; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:117; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:128;

b) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:107; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:118; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:129;

c) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:108; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:119; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:130;

d) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:109; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:120; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:131;

n) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:168; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:171; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:174;

и

вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий:

o) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:40; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:51; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:62;

p) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:41; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:52; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:63;

q) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:42; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:53; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:64;

r) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1,

HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:149; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:152; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:155; или

bb) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:150; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:153; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:156.

10. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно а) и переменный домен тяжелой цепи согласно о).

11. ST2-антигенсвязывающий белок по п.10, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:106; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:117; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:128; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:40; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:51; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:62.

12. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно б) и переменный домен тяжелой цепи согласно р).

13. ST2-антигенсвязывающий белок по п.12, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:107; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:118; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:129; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:41; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:52; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:63.

14. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно с) и переменный домен тяжелой цепи согласно q).

15. ST2-антигенсвязывающий белок по п.14, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:108; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:119; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:130; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:42; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:53; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:64.

16. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно d) и переменный домен тяжелой цепи согласно r).

17. ST2-антигенсвязывающий белок по п.16, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:109; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:120; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:131; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:43; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:54; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:65.

18. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно e) и переменный домен тяжелой цепи согласно s).

19. ST2-антигенсвязывающий белок по п.18, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:110; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:121; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:132; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:44; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:55; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:66.

20. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно f) и переменный домен тяжелой цепи согласно t).

21. ST2-антигенсвязывающий белок по п.20, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:111; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:122; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:133; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:45; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:56; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:67.

22. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно g) и переменный домен тяжелой цепи согласно u).

23. ST2-антигенсвязывающий белок по п.22, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:112; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:123; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:134; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:46; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:57; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:68.

24. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно h) и переменный домен тяжелой цепи согласно v).

25. ST2-антигенсвязывающий белок по п.24, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:113; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:124; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:135; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:47; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:58; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:69.

26. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно i) и переменный домен тяжелой цепи согласно w).

27. ST2-антигенсвязывающий белок по п.26, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:114; последовательность LCDR2,

приведенную в SEQ ID NO:125; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:136; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:48; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:59; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:70.

28. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно j) и переменный домен тяжелой цепи согласно x).

29. ST2-антигенсвязывающий белок по п.28, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:115; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:126; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:137; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:49; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:60; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:71.

30. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно k) и переменный домен тяжелой цепи согласно y).

31. ST2-антигенсвязывающий белок по п.30, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:116; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:127; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:138; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:50; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:61; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:72.

32. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно l) и переменный домен тяжелой цепи согласно z).

33. ST2-антигенсвязывающий белок по п.32, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:166; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:169; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:172; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:148; последовательность

HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:151; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:154.

34. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно m) и переменный домен тяжелой цепи согласно aa).

35. ST2-антигенсвязывающий белок по п.34, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:167; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:170; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:173; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:149; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:152; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:155.

36. ST2-антигенсвязывающий белок по п.9, содержащий переменный домен легкой цепи согласно n) и переменный домен тяжелой цепи согласно bb).

37. ST2-антигенсвязывающий белок по п.36, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит LCDR1, приведенный в SEQ ID NO:168; последовательность LCDR2, приведенную в SEQ ID NO:171; и последовательность LCDR3, приведенную в SEQ ID NO:174; а переменный домен тяжелой цепи содержит HCDR1, приведенный в SEQ ID NO:150; последовательность HCDR2, приведенную в SEQ ID NO:153; и последовательность HCDR3, приведенную в SEQ ID NO:156.

38. ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.1-37, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок специфически связывает человеческий ST2 с аффинностью, меньшей или равной 1×10^{-10} М.

39. ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.1-38, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок подавляет связывание человеческого ST2 с человеческим IL-33.

40. ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.1-39, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок снижает IL-33-опосредованную передачу сигнала ST2 человека в экспрессирующих ST2 клетках человека.

41. ST2-антигенсвязывающий белок по п.39, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок подавляет связывание ST2 яванского макака с IL-33 яванского макака.

42. ST2-антигенсвязывающий белок по п.41, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок снижает IL-33-опосредованную передачу сигнала ST2 яванского макака в экспрессирующих ST2 клетках яванского макака.

43. ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.1-42, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок является антителом.

44. ST2-антигенсвязывающий белок по п.43, отличающийся тем, что антитело является антителом человека.

45. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:84, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:18.

46. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:85, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19.

47. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:86, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:20.

48. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:87, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:21.

49. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:88, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность,

приведенную в SEQ ID NO:22.

50. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:89, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:23.

51. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:90, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:24.

52. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:91, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:25.

53. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:92, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:26.

54. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:93, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:27.

55. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:94, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:28.

56. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:160, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:142.

57. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:161, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:143.

58. ST2-антигенсвязывающий белок по п.44, содержащий легкую цепь и тяжелую цепь, при этом легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:162, а тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:144.

59. Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая полипептид, содержащий:

а) вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165;

б) вариабельный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147;

в) вариабельный домен легкой цепи, содержащий не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:95, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:97, SEQ ID NO:98, SEQ ID NO:99, SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:101, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:103, SEQ ID NO:104, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:163, SEQ ID NO:164 или SEQ ID NO:165;

г) вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:29, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38,

SEQ ID NO:39, SEQ ID NO:145, SEQ ID NO:146 или SEQ ID NO:147;

е) переменный домен легкой цепи, содержащий:

i) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:106; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:117; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:128;

ii) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:107; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:118; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:129;

iii) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:108; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:119; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:130;

iv) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:109; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:120; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:131;

v) LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности

LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:168; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:171; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:174; или

f) переменный домен тяжелой цепи, содержащий:

i) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:40; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:51; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:62;

ii) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:41; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:52; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:63;

iii) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:42; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:53; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:64;

iv) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:43; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:54; и HCDR3,

содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:155; или

xiv) HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:150; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:153; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:156.

60. Выделенная нуклеиновая кислота по п.59, отличающаяся тем, что полипептид содержит легкую цепь антитела.

61. Выделенная нуклеиновая кислота по п.60, отличающаяся тем, что легкая цепь кодируется нуклеиновой кислотой, содержащей нуклеотидную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:158 или SEQ ID NO:159.

62. Выделенная нуклеиновая кислота по п.61, отличающаяся тем, что легкая цепь кодируется нуклеиновой кислотой, содержащей нуклеотидную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:158 или SEQ ID NO:159.

63. Выделенная нуклеиновая кислота по п.62, отличающаяся тем, что легкая цепь кодируется нуклеиновой кислотой, содержащей нуклеотидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:158 или

SEQ ID NO:159.

64. Выделенная нуклеиновая кислота по п.63, отличающаяся тем, что легкая цепь кодируется нуклеиновой кислотой, содержащей нуклеотидную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:75, SEQ ID NO:76, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:78, SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:80, SEQ ID NO:81, SEQ ID NO:82, SEQ ID NO:83, SEQ ID NO:157, SEQ ID NO:158 или SEQ ID NO:159.

65. Выделенная нуклеиновая кислота по п.59, отличающаяся тем, что полипептид содержит тяжелую цепь антитела.

66. Выделенная нуклеиновая кислота по п.65, отличающаяся тем, что тяжелая цепь кодируется нуклеиновой кислотой, содержащей нуклеотидную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:139, SEQ ID NO:140 или SEQ ID NO:141.

67. Выделенная нуклеиновая кислота по п.66, отличающаяся тем, что тяжелая цепь кодируется нуклеиновой кислотой, содержащей нуклеотидную последовательность, по меньшей мере на 90% идентичную нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:139, SEQ ID NO:140 или SEQ ID NO:141.

68. Выделенная нуклеиновая кислота по п.67, отличающаяся тем, что тяжелая цепь кодируется нуклеиновой кислотой, содержащей нуклеотидную последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:139, SEQ ID NO:140 или SEQ ID NO:141.

69. Выделенная нуклеиновая кислота по п.68, отличающаяся тем, что тяжелая цепь кодируется нуклеиновой кислотой,

содержащей нуклеотидную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:139, SEQ ID NO:140 или SEQ ID NO:141.

70. Экспрессионный вектор, содержащий выделенную нуклеиновую кислоту по любому из пп.59-69.

71. Экспрессионный вектор по п.70, отличающийся тем, что выделенная нуклеиновая кислота кодирует легкую цепь антитела.

72. Экспрессионный вектор по п.70, отличающийся тем, что выделенная нуклеиновая кислота кодирует тяжелую цепь антитела.

73. Экспрессионный вектор по п.71, дополнительно содержащий выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь антитела.

74. Рекомбинантная клетка-хозяин, содержащая выделенную нуклеиновую кислоту по любому из пп.59-69, функционально связанную с промотором.

75. Рекомбинантная клетка-хозяин, содержащая экспрессионный вектор по любому из пп.70-73.

76. Рекомбинантная клетка-хозяин по п.75, отличающаяся тем, что клетка-хозяин содержит экспрессионный вектор по п.71 и 72.

77. Рекомбинантная клетка-хозяин по п.76, отличающаяся тем, что клетка-хозяин секретирует антитело, которое связывает ST2.

78. Рекомбинантная клетка-хозяин по любому из пп.74-77, отличающаяся тем, что клетка происходит из организма млекопитающего.

79. Рекомбинантная клетка-хозяин по п.78, отличающаяся тем, что клетка принадлежит клеточной линии яичников китайского хомячка (CHO).

80. Способ лечения аутоиммунного или воспалительного заболевания, включающий введение нуждающемуся в этом пациенту терапевтически эффективного количества ST2-антигенсвязывающего белка по любому из пп.1-58.

81. Способ по п.80, отличающийся тем, что ST2-

антигенсвязывающий белок является антителом.

82. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:95, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:29.

83. Способ по п.82, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:84, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:18.

84. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:96, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:30.

85. Способ по п.84, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:85, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:19.

86. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:97, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:31.

87. Способ по п.86, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:86, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:20.

88. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:98, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:32.

89. Способ по п.88, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:87, и аминокислотную последовательность

тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:21.

90. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:99, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:33.

91. Способ по п.90, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:88, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:22.

92. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:100, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:34.

93. Способ по п.92, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:89, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:23.

94. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:101, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:35.

95. Способ по п.94, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:90, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:24.

96. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:102, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:36.

97. Способ по п.96, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:91, и аминокислотную последовательность

тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:25.

98. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:103, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:37.

99. Способ по п.98, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:92, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:26.

100. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:104, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:38.

101. Способ по п.100, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:93, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:27.

102. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:105, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:39.

103. Способ по п.102, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:94, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:28.

104. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:163, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:145.

105. Способ по п.104, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:160, и аминокислотную

последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:142.

106. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:164, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:146.

107. Способ по п.106, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:161, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:143.

108. Способ по п.81, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность переменного домена легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:165, и аминокислотную последовательность переменного домена тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:147.

109. Способ по п.108, отличающийся тем, что антитело содержит аминокислотную последовательность легкой цепи, приведенную в SEQ ID NO:162, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, приведенную в SEQ ID NO:144.

110. Способ по любому из пп.80-109, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок подавляет связывание IL-33 с ST2.

111. Способ по п.110, отличающийся тем, что аутоиммунным или воспалительным заболеванием является астма, атопический дерматит, хроническое обструктивное заболевание легких, фиброз легких, сепсис и травма, ВИЧ-инфекция, системная красная волчанка, воспалительное заболевание кишечника, ревматоидный артрит, склероз, гранулематоз Вегенера, болезнь Бехчета, сердечно-сосудистое заболевание, риносинусит, назальный полипоз или эозинофильный бронхит.

112. Способ получения ST2-антигенсвязывающего белка, включающий:

а) культивирование рекомбинантной клетки-хозяина по любому из пп.74-79; и

б) выделение ST2-антигенсвязывающего белка из указанной культуры.

113. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, отличающийся

тем, что ST2-антигенсвязывающий белок перекрестно конкурирует с:

a) антителом, содержащим легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:85, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19; или

b) антителом, содержащим легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:93, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:27.

114. ST2-антигенсвязывающий белок по п.113, отличающийся тем, что указанный ST2-связывающий белок является ST2-связывающим белком по любому из пп.1-58.

115. ST2-антигенсвязывающий белок по п.113 или п.114, отличающийся тем, что ST2-антигенсвязывающий белок перекрестно конкурирует с антителом, содержащим легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:85, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19.

116. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, который связывает полипептид, содержащий домен 1 и домен 2 (SEQ ID NO:175) человеческого ST2, при этом связывание в значительной степени подавляется в случае введения одиночной мутации в домен 1 и домен 2 человеческого ST2 данного полипептида, причем одиночной мутацией является L14R, I15R, S33R, E43R, V47R, A62R, G65R, T79R, D92R, D97R, V104R, G138R, N152R или V176R.

117. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.116, отличающийся тем, что связывание в значительной степени подавляется в случае двух или более одиночных мутаций.

118. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.117, отличающийся тем, что связывание в значительной степени подавляется в случае всех одиночных мутаций.

119. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.116, отличающийся тем, что связывание в значительной степени активируется в случае введения одиночной мутации в домен 1 и домен 2 человеческого ST2 данного полипептида, причем одиночной

мутацией является L53R, R72A или S73R.

120. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.119, отличающийся тем, что связывание в значительной степени активируется в случае всех представителей указанной группы.

121. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.116, отличающийся тем, что ST2-связывающий белок перекрестно конкурирует за связывание с человеческим ST2 с антителом, содержащим легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID:85, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность, приведенную в SEQ ID NO:19.

122. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.116-121, отличающийся тем, что указанный ST2-связывающий белок является ST2-связывающим белком по любому из пп.1-58.

123. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, отличающийся тем, что ST2-антигенсвязывающий белок связывает ST2, содержащий аминокислоты 19-322 из SEQ ID NO:1 в пределах аминокислот 33-44 или 88-94 из SEQ ID NO:1, как определено при помощи анализа водородно-дейтериевого обмена.

124. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.123, отличающийся тем, что ST2-связывающий белок связывается в пределах аминокислот 33-44 и 88-94 из SEQ ID NO:1, как определено при помощи анализа водородно-дейтериевого обмена.

125. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.124, отличающийся тем, что указанный ST2-связывающий белок является ST2-связывающим белком по любому из пп.1-58.

126. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, который связывается с ST2 с образованием области контакта, при этом область контакта, образованная при указанном связывании, содержит остаток ST2 K1, F2, P19, R20, Q21, G22, K23, Y26, I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79 или Y81.

127. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.126, отличающийся тем, что область контакта, образованная при указанном связывании, содержит остаток ST2 P19, R20, Q21, G22, K23 или Y26.

128. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.127,

отличающийся тем, что область контакта, образованная при указанном связывании, содержит остатки ST2 P19, R20, Q21, G22, K23 и Y26.

129. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.126, отличающийся тем, что область контакта, образованная при указанном связывании, содержит остаток ST2 I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79 или Y81.

130. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.129, отличающийся тем, что область контакта, образованная при указанном связывании, содержит остатки ST2 I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79 и Y81.

131. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.126, отличающийся тем, что область контакта, образованная при указанном связывании, содержит остатки ST2 P19, R20, Q21, G22, K23, Y26, I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79 и Y81.

132. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.131, отличающийся тем, что область контакта, образованная при указанном связывании, содержит остатки ST2 K1, F2, P19, R20, Q21, G22, K23, Y26, I70, V71, R72, S73, P74, T75, F76, N77, R78, T79 и Y81.

133. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.126-131, отличающийся тем, что область контакта определяют по разнице в площади поверхности, доступной для растворителя, между связанным и несвязанным ST2, при этом остатки из области контакта определяют как аминокислоты, которые характеризуются разницей более 10% и которые образуют опосредованные водой водородные связи с указанным антителом.

134. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.126-131, отличающийся тем, что остатки из области контакта определяют как аминокислоты, которые содержат по меньшей мере один атом в пределах $5\text{\AA}$ от указанного антитела.

135. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, содержащий:

а) вариабельный домен легкой цепи, являющийся по меньшей мере на 90% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:96;

b) переменный домен тяжелой цепи, являющийся по меньшей мере на 90% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:30; или

c) переменный домен легкой цепи согласно a) и переменный домен тяжелой цепи согласно b).

136. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.135, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи является по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:96.

137. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.135 или 136, отличающийся тем, что переменный домен тяжелой цепи является по меньшей мере на 95% идентичным аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:30.

138. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, содержащий:

a) переменный домен легкой цепи, содержащий не более десяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:96;

b) переменный домен тяжелой цепи, содержащий не более десяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:30; или

c) переменный домен легкой цепи согласно a) и переменный домен тяжелой цепи согласно b).

139. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.138, отличающийся тем, что переменный домен легкой цепи содержит не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:96.

140. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.138 или 139, отличающийся тем, что переменный домен тяжелой цепи содержит не более пяти аминокислотных вставок, делеций или замен относительно аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO:30.

141. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок, содержащий:

a) переменный домен легкой цепи, содержащий LCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или

замен относительно последовательности LCDR1, приведенной в SEQ ID NO:107; LCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR2, приведенной в SEQ ID NO:118; и LCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности LCDR3, приведенной в SEQ ID NO:129;

b) переменный домен тяжелой цепи, содержащий HCDR1, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR1, приведенной в SEQ ID NO:41; HCDR2, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR2, приведенной в SEQ ID NO:52; и HCDR3, содержащий не более трех аминокислотных вставок, делеций или замен относительно последовательности HCDR3, приведенной в SEQ ID NO:63; или

c) переменный домен легкой цепи согласно a) и переменный домен тяжелой цепи согласно b).

142. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.135-141, отличающийся тем, что указанный переменный участок легкой цепи содержит D28 или его консервативную замену, I29 или его консервативную замену, S30 или его консервативную замену, N31 или его консервативную замену, Y32 или его консервативную замену, Y49 или его консервативную замену, D50 или его консервативную замену, N53 или его консервативную замену, E55 или его консервативную замену, T56 или его консервативную замену, D91 или его консервативную замену, D92 или его консервативную замену, N93 или его консервативную замену, F94 или его консервативную замену или L96 или его консервативную замену.

143. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.142, отличающийся тем, что указанный переменный участок легкой цепи содержит D28 или его консервативную замену, N31 или его консервативную замену, D50 или его консервативную замену, N53 или его консервативную замену, E55 или его консервативную замену, D91 или его консервативную замену и D92 или его консервативную замену.

144. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.143, отличающийся тем, что указанный вариабельный участок легкой цепи содержит D28, N31, D50, N53, E55, D91 и D92.

145. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.135-144, отличающийся тем, что указанный вариабельный участок тяжелой цепи содержит W33 или его консервативную замену, I50 или его консервативную замену, D57 или его консервативную замену, R59 или его консервативную замену, H99 или его консервативную замену, G100 или его консервативную замену, T101 или его консервативную замену, S102 или его консервативную замену, S103 или его консервативную замену, D104 или его консервативную замену, Y105 или его консервативную замену или Y106 или его консервативную замену.

146. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.145, отличающийся тем, что указанный вариабельный участок тяжелой цепи содержит S102 или его консервативную замену, S103 или его консервативную замену, D104 или его консервативную замену и Y105 или его консервативную замену.

147. Выделенный ST2-антигенсвязывающий белок по п.146, отличающийся тем, что указанный вариабельный участок тяжелой цепи содержит S102, S103, D104 и Y105.

148. ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.113-147, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок специфически связывает человеческий ST2 с аффинностью, меньшей или равной 1×10^{-10} М.

149. ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.113-148, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок подавляет связывание человеческого ST2 с человеческим IL-33.

150. ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.113-149, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок снижает IL-33-опосредованную передачу сигнала ST2 человека в экспрессирующих ST2 клетках человека.

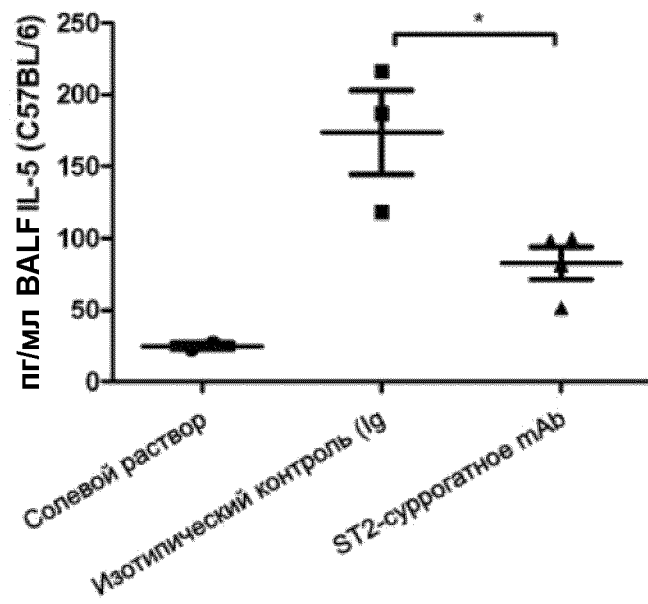
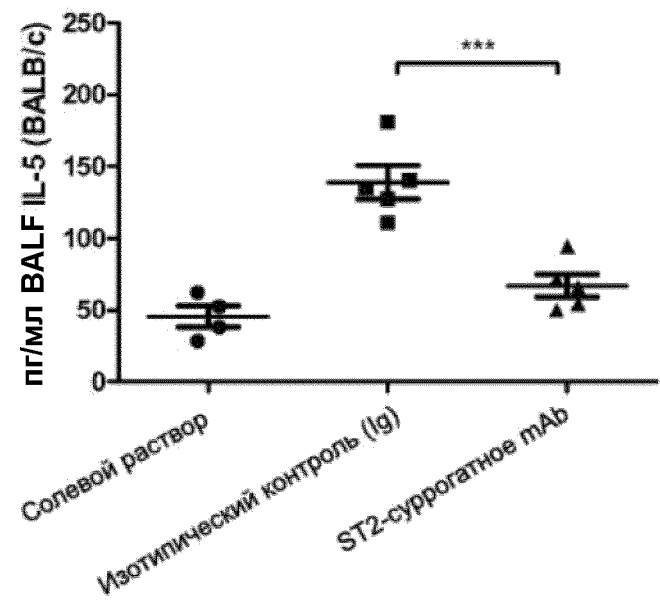
151. ST2-антигенсвязывающий белок по п.149, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок подавляет связывание ST2 яванского макака с IL-33 яванского макака.

152. ST2-антигенсвязывающий белок по п.151, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок снижает IL-33-опосредованную передачу сигнала ST2 яванского макака в экспрессирующих ST2 клетках яванского макака.

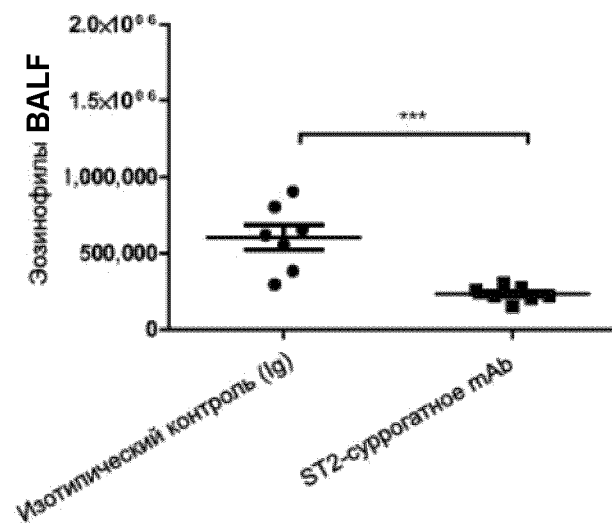
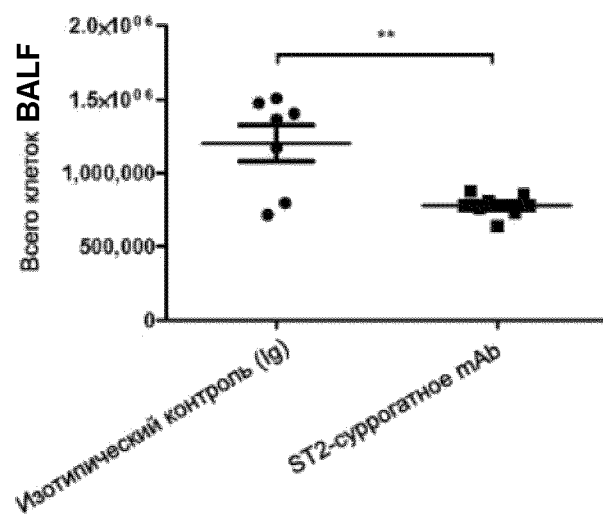
153. ST2-антигенсвязывающий белок по любому из пп.113-152, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок является антителом.

154. ST2-антигенсвязывающий белок по п.153, отличающийся тем, что антитело является антителом человека.

По доверенности

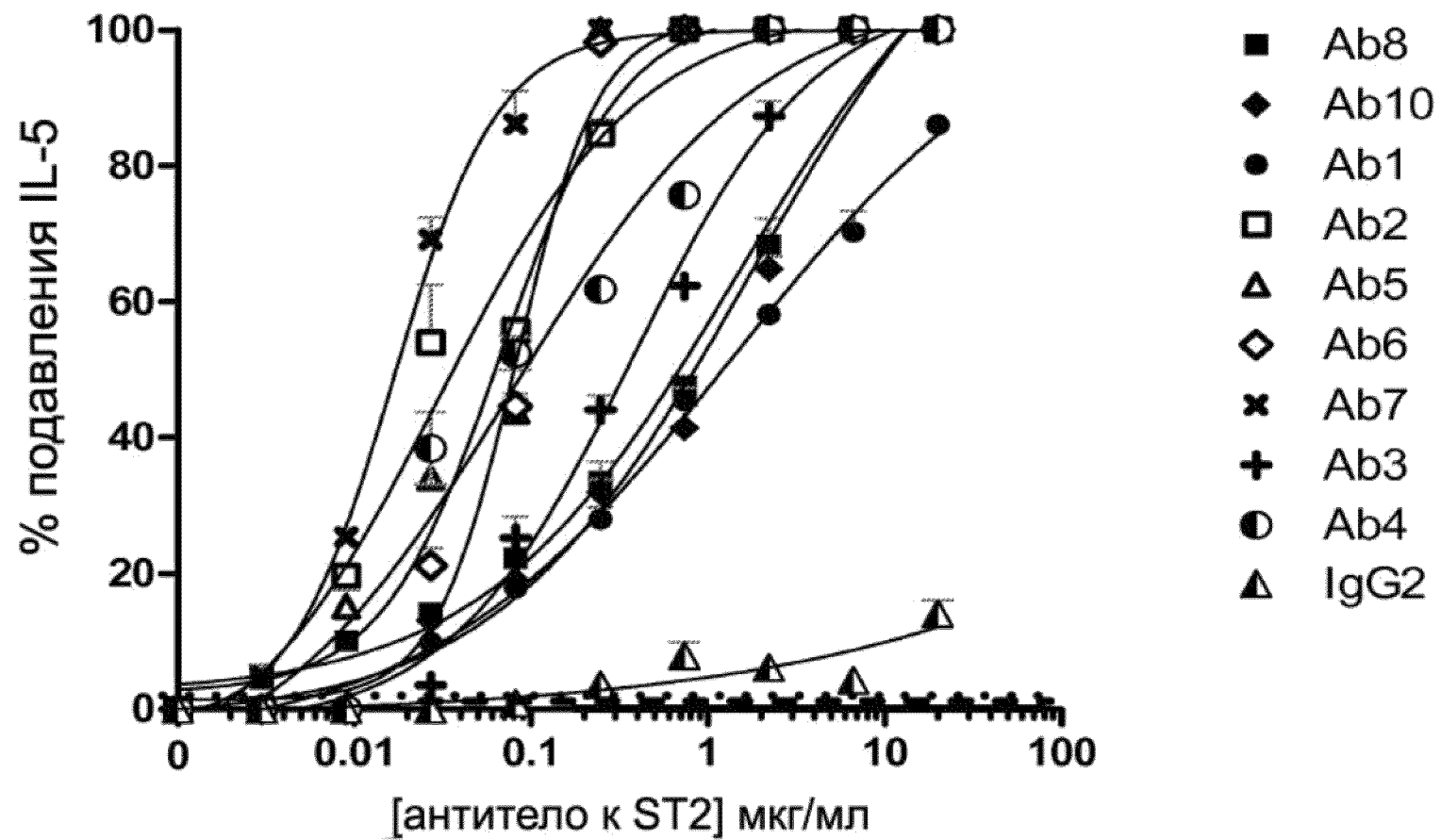


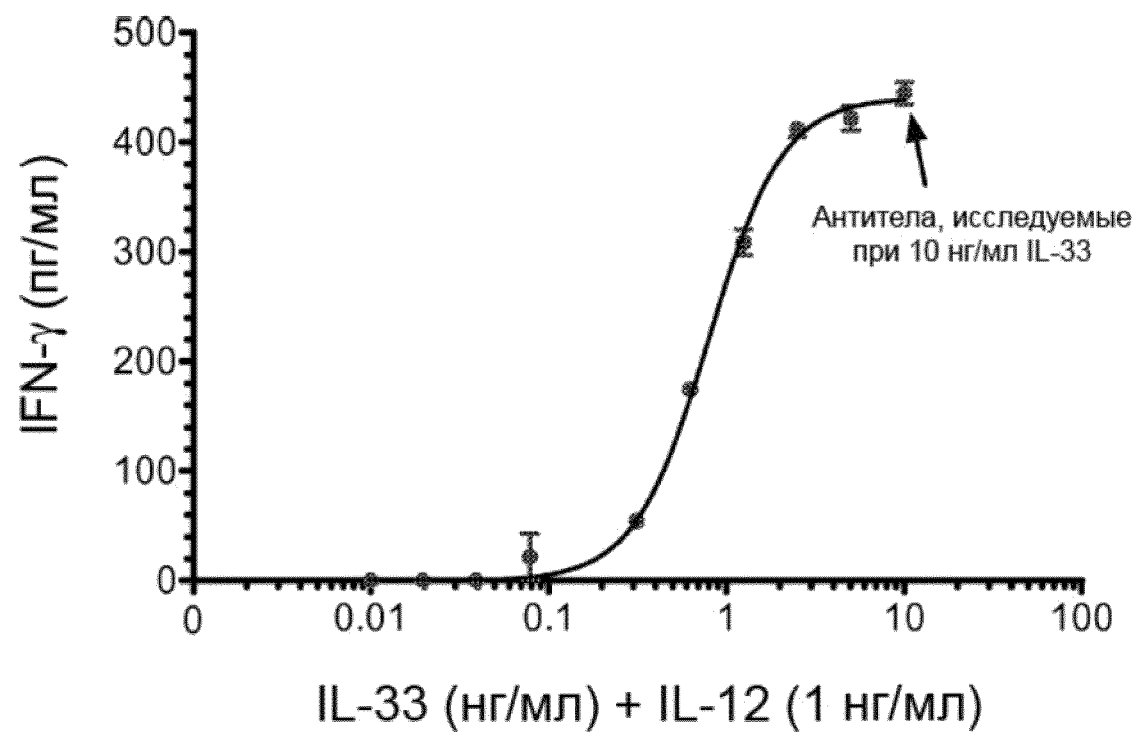
ФИГ. 1



ФИГ. 2

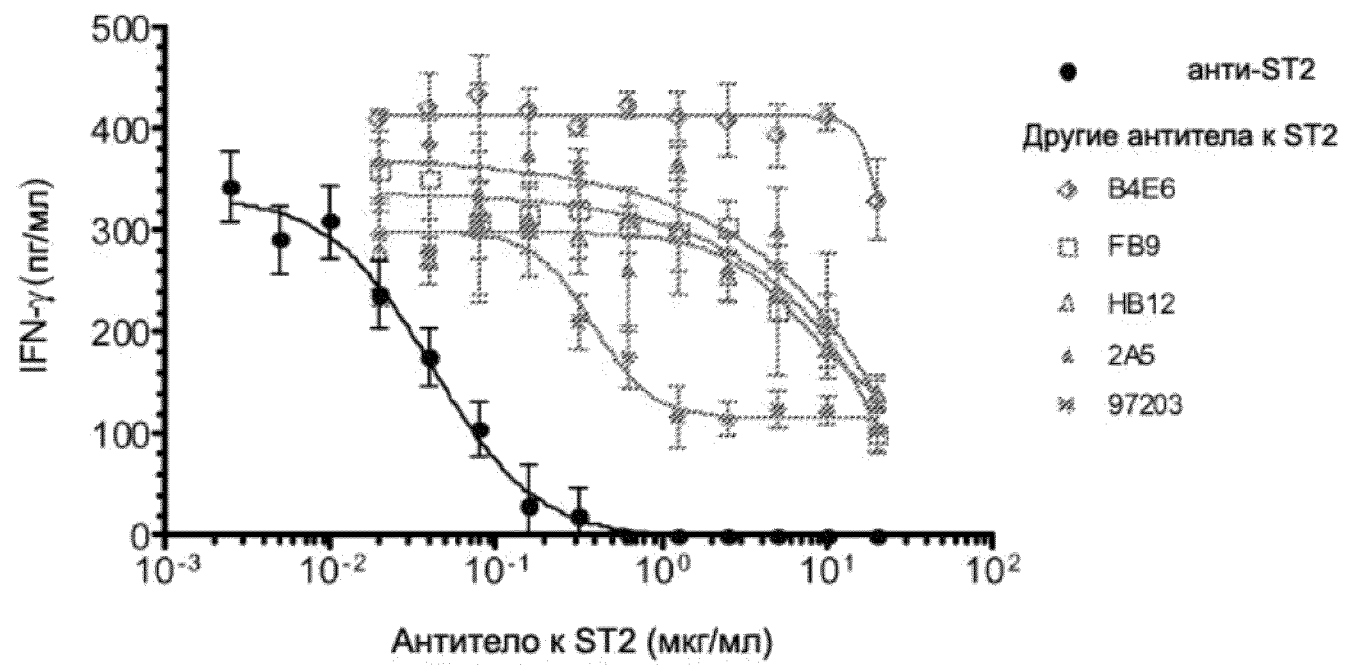
ФИГ. 3



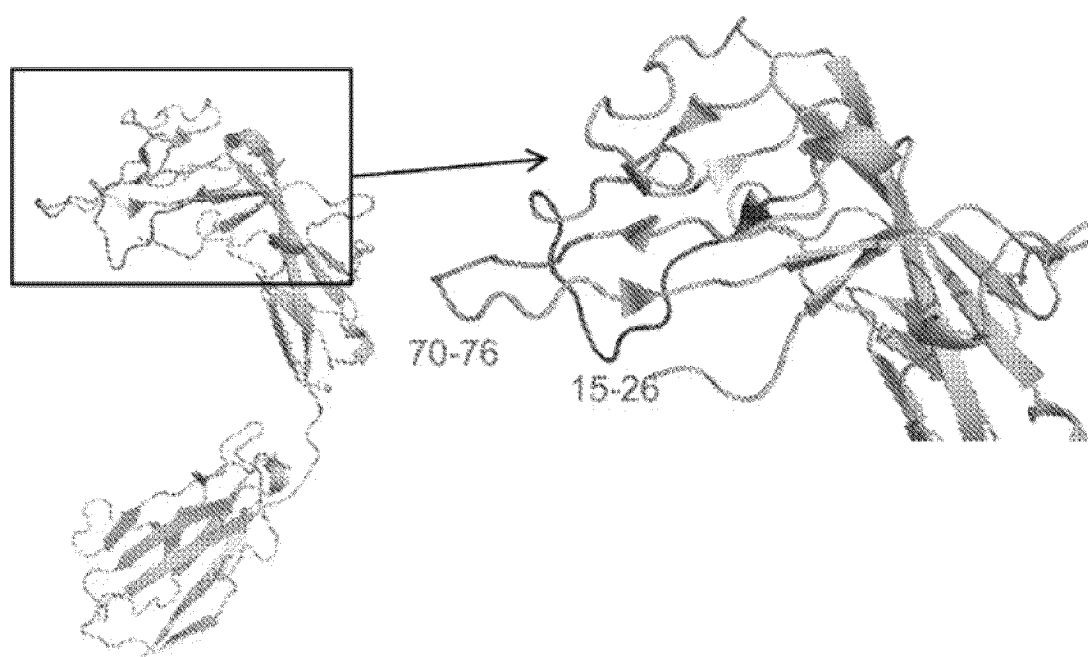


	IL-33 (нг/мл)
EC50	0,7950

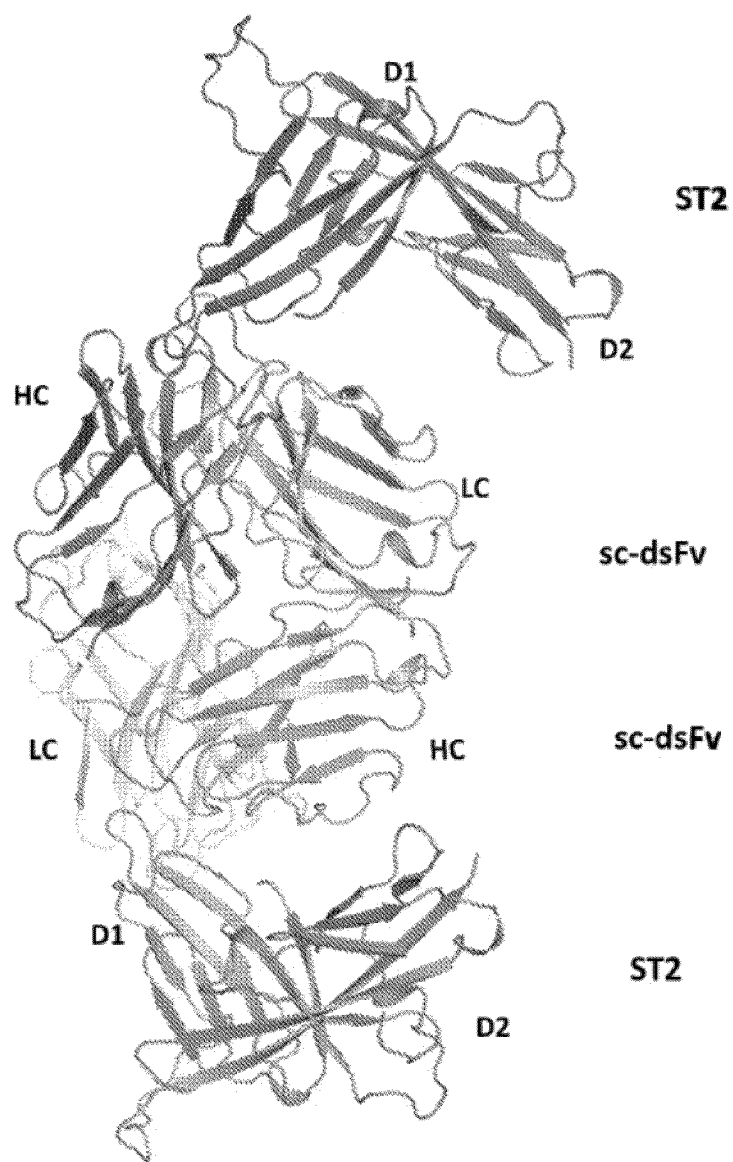
ФИГ. 4



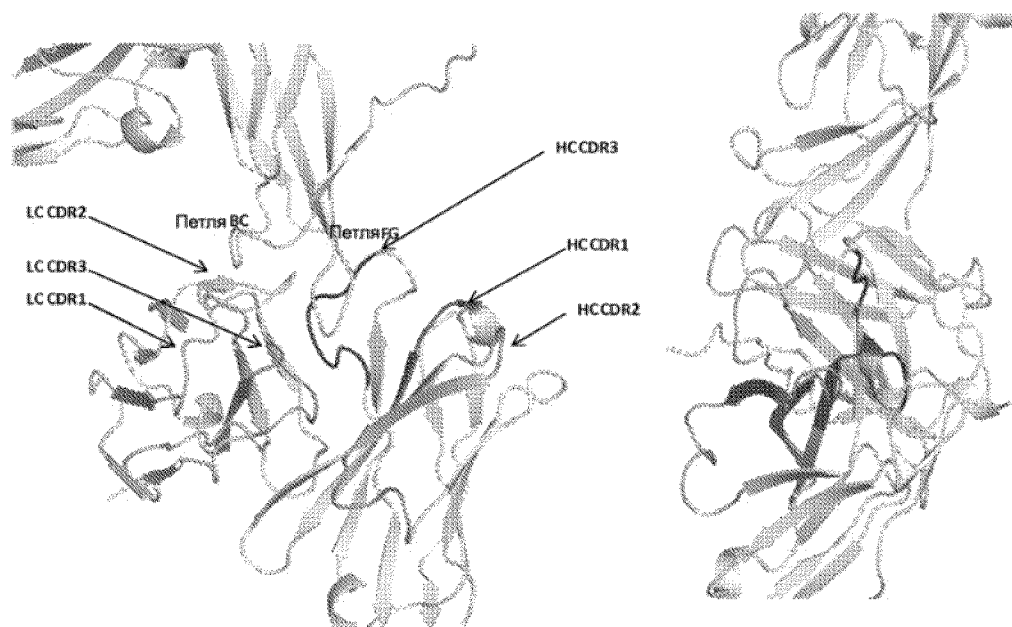
ФИГ. 5



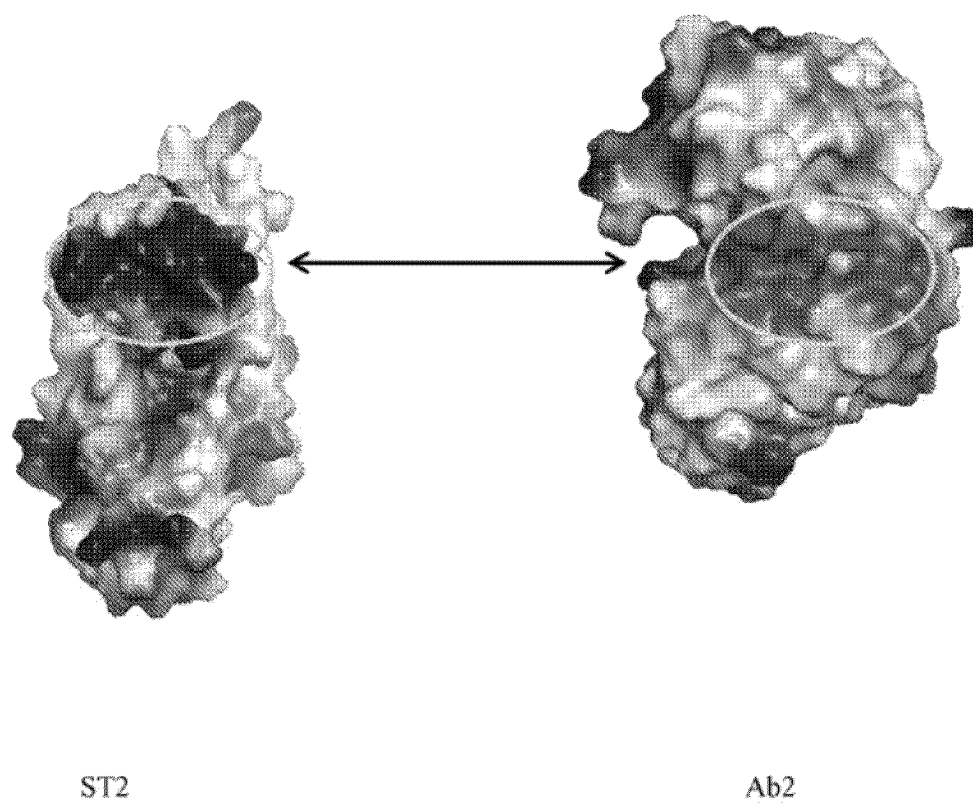
ФИГ. 6



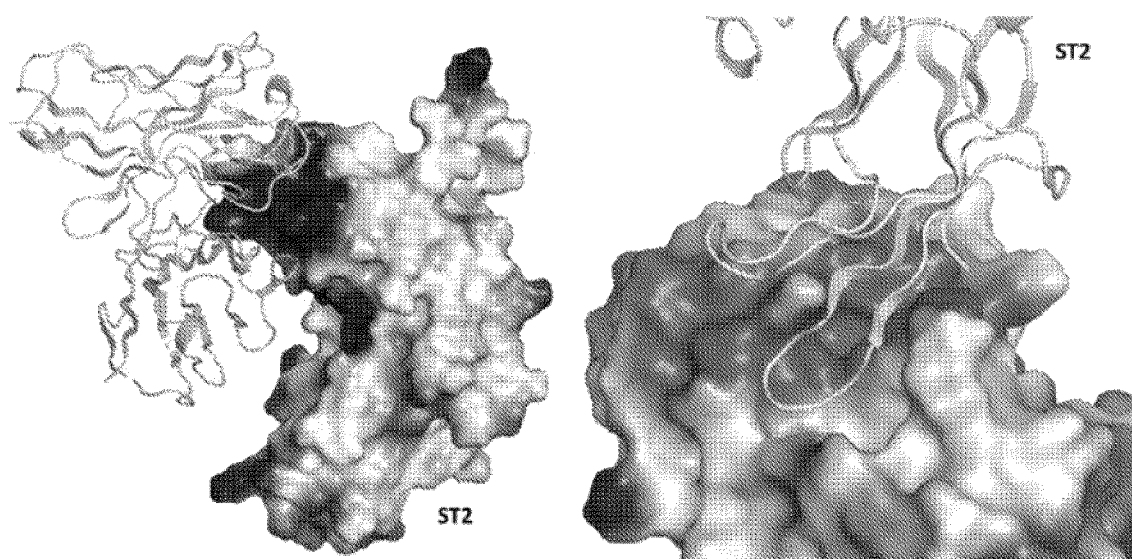
ФИГ. 7



ФИГ. 8



ФИГ. 9А



ФИГ. 9В

Варибельный участок HC Ab2 (SEQ ID NO:30)

EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGSGYSFT NYWIGWVRQM PGKGLEWMGI IYPGNSDTRF SPSFQGQVTI SADKSITTAY
LQWSSLKASD TAMYICARHG TSSDYGLDV WGQGTITVTS S

Варибельный участок LC Ab2 (SEQ ID NO:96)

DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCQASQDIS NYLNNYQQKP GKAPKLLIYD ASNLEITGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP
EDIATYYCQQ DDNFPLTEGG GTKVEIKR

11/11

ФИГ. 10