

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 201500485 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2015.11.30

(51) Int. Cl. C12N 9/26 (2006.01)  
C12N 15/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2009.12.09

---

(54) ДЛИННЫЕ РАСТВОРИМЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ RH20 И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

---

(31) 61/201,384; 61/281,240

(32) 2008.12.09; 2009.11.13

(33) US

(62) 201100908; 2009.12.09

(71) Заявитель:  
ГАЛОЗИМ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:  
Вен Ги, Панныирселвам Кришнасами,  
Фрост Грегори Ай, Букбиндер Луис  
(US)

(74) Представитель:  
Стояченко И.Л. (RU)

(57) Заявлен способ получения полипептида гиалуронидазы RH20. Способ включает культивирование клеток, содержащих нуклеиновую кислоту, кодирующую гиалуронидазу RH20. Культивирование осуществляют в условиях, обеспечивающих экспрессию закодированного полипептида в клетках. Заявлен способ получения полипептида гиалуронидазы RH20. Способ включает культивирование клеток, содержащих вектор, кодирующий гиалуронидазу RH20. Культивирование осуществляют в условиях, обеспечивающих экспрессию закодированного полипептида в клетках.

A1

201500485

201500485

A1

## **ДЛИННЫЕ РАСТВОРИМЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ PH20 И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ**

### **Родственные заявки**

Приоритет по данной заявке принадлежит предварительной заявке США № 61/281,240, авторами которой являются Ge Wei, Krishnasamy Panneerselvam, Louis Bookbinder и Gregory I. Frost, озаглавленной "EXTENDED SOLUBLE PH20 POLYPEPTIDES AND USES THEREOF" (Длинные растворимые полипептиды PH20 и их использование), поданной 13 ноября 2009, и предварительной заявке США № 61/201,384, Ge Wei, Krishnasamy Panneerselvam, Louis Bookbinder и Gregory I. Frost, озаглавленной "EXTENDED SOLUBLE PH20 POLYPEPTIDES AND USES THEREOF" (Длинные растворимые полипептиды PH20 и их использование), поданной 9 декабря 2008 года. Содержание вышеупомянутых родственных заявок в полном объеме включено в настоящее описание в виде ссылок.

Настоящая заявка родственна заявке США №12/653,245, поданной одновременно с настоящей заявкой, озаглавленной "EXTENDED SOLUBLE PH20 POLYPEPTIDES AND USES THEREOF" (Длинные растворимые полипептиды PH20 и их применение), которая претендует на приоритет предварительных заявок США №№ 61/281,240 и 61/201,384.

Содержание вышеупомянутых родственных заявок включено в настоящее описание в полном объеме в качестве ссылки.

### **Область техники**

Изобретение относится к растворимым полипептидам PH20, в том числе к длинным растворимым полипептидам PH20, и их применению. Изобретение также включает и другие укороченные с С-конца полипептиды PH20 и частично дегликозилированные полипептиды PH20 и их применение.

### **Уровень техники**

Гиалуронан (гиалуроновая кислота, ГК) представляет собой полипептид, распространенный во внеклеточном матриксе множества тканей, особенно в мягкой соединительной ткани. В организме млекопитающих ГК также преимущественно встречается в коже, хрящах и в синовиальной жидкости. Гиалуроновая кислота также является основным компонентом стекловидного тела глаза. ГК играет важную роль в различных физиологических процессах, таких как водный гомеостаз и гомеостаз белков плазмы (Laurent T. C. и др. (1992) *FASEB J.* 6: 2397-2404).

Некоторые заболевания связаны с экспрессией и/или продукцией гиалуроновой кислоты. Гиалуронидазы представляют собой ферменты, которые разрушают гиалуронан. Выступая в роли катализаторов гидролиза ГК, гиалуронидазы могут быть использованы для лечения заболеваний или расстройств, связанных с накоплением ГК или других гликозаминогликанов. Кроме того, поскольку ГК является основным компонентом интерстициального барьера, гиалуронидазы способны увеличивать проницаемость тканей и, следовательно, могут быть использованы для усиления распространения и ускорения доставки терапевтических агентов. В терапевтических целях в комбинации с другими терапевтическими агентами, как правило, в качестве диспергирующих агентов и агентов, усиливающих распространение, были использованы различные гиалуронидазы (например Hydase™, Vitrase™ и Wydase™). Многие из указанных ферментов являются бычьими или овечьими белками, которые могут быть иммуногенными для человека. Таким образом, существует потребность в улучшенных композициях гиалуронидаз, которые могут быть использованы для лечения.

### **Краткое описание изобретения**

Изобретение включает растворимые полипептиды PH20, в том числе длинные растворимые полипептиды PH20 (esPH20), и их композиции. Предусмотренные в настоящем изобретении полипептиды PH20 представляют собой укороченные с С-конца растворимые белки, включая белки, в которых отсутствует сигнальная последовательность присоединения GPI-якоря (например, белки, в которых отсутствуют аминокислоты с 450 до 490). К растворимым полипептидам PH20 также относятся длинные растворимые полипептиды PH20, которые включают один или несколько аминокислотных остатков из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря соответствующего полноразмерного полипептида PH20 дикого типа. Также в данном изобретении предусмотрены другие модифицированные укороченные с С-конца полипептиды PH20. Также предусмотрены частично дегликозилированные формы всех описанных полипептидов. Кроме того, предусмотрены способы лечения с использованием предусмотренных полипептидов PH20.

Изобретение включает выделенные и существенно очищенные длинные растворимые гиалуронидазы PH20 (esPH20), которые могут быть N-гликозилированы или частично N-гликозилированы. В некоторых примерах, частично N-гликозилированный полипептид esPH20 содержит, по меньшей мере,

остаток N-ацетилглюкозамина, связанный, по меньшей мере, с каждым из двух N-замещенных остатков, таких как, например, аминокислотные остатки 368 и 393 из SEQ ID NO: 107, или соответствующие аминокислотным остаткам 368 и 393 из SEQ ID NO: 107 остатки. В некоторых аспектах, частично N-гликозилированный полипептид esPH20 содержит не менее двух остатков N-ацетилглюкозамина, связанных, по меньшей мере, с каждым из двух N-замещенных остатков. Частично N-гликозилированный полипептид esPH20 по настоящему изобретению также может содержать разветвленные сахара.

Изобретение включает полипептиды esPH20 с последовательностями аминокислот, приведенными в любой из SEQ ID NO: 60-63 и 102-104, а также их аллельные или видовые варианты. Кроме того, предусмотрены варианты полипептидов esPH20, не менее чем на 40%, 45%, 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичные любой из последовательностей SEQ ID NO: 60-63 и 102-104 и сохраняющие не менее 30% гиалуронидазной активности соответствующей немодифицированной формы или полипептида, кодируемого нуклеиновой кислотой, которая кодирует полипептид из аминокислот 36-482 SEQ ID NO: 107. Такие полипептиды esPH20 остаются растворимыми и активными. В одном из примеров esPH20 представляет собой человеческую esPH20, например, с последовательностью аминокислот, приведенной в любой из SEQ ID NO: 60-63 и 102-104, или esPH20 шимпанзе, например, с последовательностью аминокислот, соответствующей аминокислотам 36-491, 36-492, 36-493, 36-494, 36-495, 36-496, 36-497 или 36-498 из SEQ ID NO: 197.

Также в данном изобретении предусмотрены в значительной степени очищенные полипептиды PH20. Указанные полипептиды PH20 могут иметь последовательности аминокислот, приведенные в любой из SEQ ID NO: 55-63 и 64-95, или их аллельные или видовые варианты. В другом примере полипептиды PH20 представляют собой варианты, не менее чем на 40%, 45%, 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичные любой из последовательностей SEQ ID NO: 55-63 и 64-95 и сохраняющие не менее 30% гиалуронидазной активности соответствующей немодифицированной формы или полипептида, кодируемого нуклеиновой кислотой, которая кодирует полипептид из аминокислот 36-482 из SEQ ID NO: 107. Такие полипептиды PH20 обладают промежуточной активностью.

Предусмотренные в данном изобретении полипептиды PH20 могут быть N-гликозилированы или частично N-гликозилированы. В некоторых примерах,



частично N-гликозилированные полипептиды esPH20 содержат, по меньшей мере, один остаток N-ацетилглюкозамина, связанный, по меньшей мере, с каждым из двух N-замещенных остатков, таких как, например, аминокислотные остатки 368 и 393 из SEQ ID NO: 107, или соответствующие аминокислотным остаткам 368 и 393 из SEQ ID NO: 107 остатки. В некоторых аспектах, частично N-гликозилированный полипептид esPH20 содержит не менее двух остатков N-ацетилглюкозамина, связанных, по меньшей мере, с каждым из двух N-замещенных остатков. Частично N-гликозилированные полипептиды PH20 по настоящему документу также могут содержать разветвленные сахара. В некоторых аспектах полипептиды PH20 по настоящему документу являются растворимыми и могут представлять собой полипептиды PH20 человека, шимпанзе, макаки, обезьяны циномолгус, мыши, кролика, морской свинки, коровы или овцы.

Полипептиды esPH20 и PH20 по настоящему изобретению могут быть модифицированы, например, путем сиаилирования, альбуминирования, фарнезилирования, карбоксилирования, гидроксирования или фосфорилирования. В некоторых аспектах полипептиды esPH20 и PH20 модифицированы присоединением полимеров, таких как декстран или ПЭГ. В настоящем документе также предусмотрены конъюгаты, содержащие полипептиды esPH20 или PH20. Примеры конъюгатов включают молекулы, в которых esPH20 или PH20 конъюгированы с доменом для мультимеризации (например, доменом Fc), токсином, меткой для обнаружения или лекарством.

Также данное изобретение включает нуклеиновые кислоты, кодирующие описанные выше и предусмотренные в данном изобретении полипептиды esPH20 и PH20. Указанные нуклеиновые кислоты включают нуклеиновые кислоты, которые кодируют полипептиды esPH20 или PH20 с последовательностями, соответствующими аминокислотам 36-450, 36-451, 36-452, 36-453, 36-454, 36-455, 36-456, 36-457, 36-458, 36-459, 36-460, 36-461, 36-462, 36-463, 36-464, 36-465, 36-484, 36-485, 36-486, 36-487, 36-489, 36-491, 36-492, 36-493, 36-494, 36-495, 36-496 или 36-497 из SEQ ID NO: 107, и нуклеиновые кислоты, которые кодируют esPH20 с последовательностями, соответствующими аминокислотам 36-491, 36-492, 36-493, 36-494, 36-495, 36-496, 36-497 или 36-498 из SEQ ID NO: 197. Также в данном изобретении предусмотрены векторы, которые содержат эти нуклеиновые кислоты, и клетки, которые содержат указанные векторы, такие как клетки CHO.

Изобретение включает композиции, содержащие один или несколько описанных здесь полипептидов esPH20 или PH20. В некоторых примерах

композиции содержат несколько полипептидов esPH20 или PH20. Например, композиции могут содержать несколько полипептидов esPH20, которые кодируются молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими последовательности, соответствующие аминокислотам 36-450, 36-451, 36-452, 36-453, 36-454, 36-455, 36-456, 36-457, 36-458, 36-459, 36-460, 36-461, 36-462, 36-463, 36-464, 36-465, 36-484, 36-485, 36-486, 36-487, 36-489, 36-491, 36-492, 36-493, 36-494, 36-495, 36-496 или 36-497 из SEQ ID NO: 107, и которые кодируются молекулами нуклеиновой кислоты, кодирующими esPH20 с последовательностью, соответствующей аминокислотам 36-491, 36-492, 36-493, 36-494, 36-495, 36-496, 36-497 или 36-498 из SEQ ID NO: 197. В некоторых примерах, композиции содержат полипептиды esPH20 или PH20, которые выделяют из клеток СНО.

Предусмотренные в данном изобретении композиции могут представлять собой фармацевтические композиции. В некоторых примерах композиции содержат дополнительный терапевтический агент, который может быть включен в ту же композицию, либо может быть включен в отдельную композицию. Примеры терапевтических агентов, которые могут быть включены в предусмотренные здесь композиции, включают химиотерапевтические агенты, анальгетики, противовоспалительные средства, противомикробные агенты, противоамебные агенты, противотрихомонадные агенты, агенты для лечения болезни Паркинсона, противомаларийные агенты, противосудорожные агенты, антидепрессанты, противоартритные агенты, противогрибковые агенты, антигипертензивные агенты, жаропонижающие агенты, противопаразитные агенты, антигистаминные агенты, агонисты альфа-адренорецепторов, альфа-блокаторы, анестетики, расширяющие бронхи агенты, биоцидные агенты, бактерицидные агенты, бактериостатические агенты, бета-адренергические блокаторы, блокаторы кальциевых каналов, сердечнососудистые агенты, противозачаточные агенты, противоотечные агенты, мочегонные агенты, депрессанты, диагностические агенты, электролиты, снотворные агенты, гормоны, средства против гипергликемии, миорелаксанты, агенты, вызывающие сокращение мышц, офтальмологические агенты, парасимпатомиметические агенты, антидепрессанты, седативные средства, симпатомиметики, транквилизаторы, агенты для лечения заболеваний, связанных с мочевой системой, агенты для лечения вагинальных заболеваний, противовирусные препараты, витамины, нестероидные противовоспалительные средства, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, полипептиды, белки, нуклеиновые кислоты, лекарства, органические молекулы и индукторы сна. В конкретном примере

терапевтический агент представляет собой антитело, иммуноглобулин, бисфосфонат (такой как золентроновая кислота), цитокин, химиотерапевтическое средство или инсулин (например, быстродействующий инсулин).

Другие терапевтические агенты, которые могут быть включены в предусмотренные в данном изобретении композиции, включают, но не ограничиваются, ацивицином; акларубицином; акодазолом; акронином; адозелезином; алдеслейкином; алемтузумабом; алитретиноином (9-цис-ретиноевой кислотой); аллопуринолом; алтретиамином; алвоцидибом; амбазоном; амбомицином; аметантроном; амифостином; аминоклутетимидом; амсакрином; анастрозолом; анаксироном; анситабином; антрамицином; апазиквоном; аргимесна; триоксидом мышьяка; аспарагиназой; асперлином; атримустинном; азацитидином; азетепа; азотомиицином; баноксантроном; батабулином; батимастатом; вакциной БЦЖ; бенаксибином; бендамустином; бензодепа; бексаротеном; бевацизумабом; бикалутаамидом; биетасерпином; бирикодаром; бизантреном; димезилатом биснафида; бизелезином; блеомицином; бортезомибом; бреквинаром; бропирамином; будотитаном; бусульфамом; кактиномицином; калустероном; канертинибом; капецитабином; карацемидом; карбетимером; карбоплатином; карбоквоном; кармофуром; кармустином с полифеппрозаном; кармустином; карубицином; карзелезином; седефинголом; селекоксибом; семадотином; хлорамбуцилом; циотеронелом; циролемицином; цисплатином; кладрибином; кланфенуром; клофарабином; криснатолом; циклофосфамидом; липосомальным цитарабином; цитарабином; дакарбазином; дактиномицином; дарбепозитином альфа; липосомальным даунорубицином; даунорубицином/дауномицином; даунорубицином; децитабином; денилейкин дифтитоксом; декснигулдипином; дексоннаплатином; дексразоксаном; дезагуанином; диазиквоном; диброспидиумом; диеногестом; диналином; дизермолидом; доцетакселом; дофеквидаром; доксифлуридином; липосомальным доксорубицином; доксорубицином-НСI; липосомальным докорубицином-НСI для инъекций; доксорубицинами; дролоксифеном; пропионатом дромостанолонa; дуазомицином; экомустинном; эдатрексатом; эдотекарином; эфлорнитином; элакридаром; элинафидом; раствором Эллиотта В; элсамитрусином; эмитефуром; энлоплатином; энпроматом; энзастаурином; эпипропидином; эпирубицином; эпозитином альфа; эпталопростом; эрбулозолом; эзорубицином; эстрамустином; этанидазолом; этоглуцидом; этопозид фосфатом; этопозидом VP-16; этопозидами; этоприном; эксеместаном; эксизулиндом; фадрозолом; фазарабином; фенретином; филграстимом;

флоксуридином; флударабином; фторурацилом; 5-фторурацилом;  
 флуоксиместероном; флуороцитабином; фосхидоном; фостриецином; фотретамином;  
 фулвестрантом; галарубицином; галоцитабином; гемцитабином;  
 гемтузумаб/озогамицином; герохинолом; гиматеканом; гимерацилом; глоксазоном;  
 глюфосфамидом; гозерелин ацетатом; гидроксимочевиной;  
 ибритумомаб/тиукситаном; идарубицином; ифосфамидом; илмофозином;  
 иломастатом; иматиниб мезилатом; имексоном; импросульфамом; индизуламом;  
 инпроквоном; интерфероном альфа-2a; интерфероном альфа-2b; интерфероном  
 альфа, интерфероном бета, интерферон гамма, интерферонами, интерлейкином-2 и  
 другими интерлейкинами (в том числе рекомбинантными интерлейкинами);  
 интоплицином; иобенгуаном [131-I]; ипроплатином; иринотеканом; ирсогладином;  
 иксабепилоном; кетотрексатом; L-аланозином; ланреотидом; лапатинибом;  
 ледоксантроном; летрозолом; лейковорином; лейпролидом; лейпрорелином  
 (лейпрорелидом); левамизолом; лексакальцитолом; лиарозолом; лобоплатином;  
 лометрексоллом; ломустином/CCNU; ломустином; лонафарнибом; лозоксантроном;  
 луртотеканом; мафосфамидом; манносульфамом; маримастатом; мазопроколом;  
 мейтансином; мехлоретамином; мехлоретамином/азотистыми ипритами, мегестрол  
 ацетатом; мегестролом; меленгестролом; мелфаланом; мелфаланзил-РАМ;  
 меногарилом; мепитиостаном; меркаптопурином; 6-меркаптопурином; месна;  
 метезиндом; метотрексатом; метоксаленом; метомидатом; метоприном; метуредеп;  
 мибоплатином; мипроксифеном; мизонидазолом; митиндомидом; митокарцином;  
 митокроминном; митофлаксоном; митогиллином; митогуазоном; митомалцином;  
 митомицином Cs; митомицином; митонафидом; митоквидоном; митоспером;  
 митотаном; митоксантроном; митозоломидом; мивобулином; мизорибином;  
 мофаротеном; мопидамолом; мубритинибом; микофеноловой кислотой;  
 фенпропионатом нандролон; недаплатином; нелзарабином; неморубицином;  
 нитракрином; нокодазолом; нофетумомабом; ногаламицином; нолатрекседом;  
 нортотипксантроном; октреотидом; опрелвекином; ормаплатином; ортатакселом;  
 отерацилом; оксалиплатином; оксизураном; оксофенарсином; паклитакселом;  
 памидронатом; патубилоном; пегадемазой; пегаспаргазой; пегфилграстимом;  
 пелдезином; пелиомицином; пелитрексоллом; пеметрекседом; пентамустином;  
 пентостатином; пепломицином; перфосфамидом; перифозином; пикоплатином;  
 пинафидом; пипоброманом; пипосульфамом; пирфенидоном; пироксантроном;  
 пиксантроном; плевитрекседом; пликамицид митрамицином; пликамицином;  
 пломестаном; порфимером натрия; порфимером; порфирамицином;

преднимустином; прокарбазином; пропамидином; проспидиумом; пумитепа; пуромицином; пиразофурином; квинакрином; ранимустином; расбуриказой; рибопримом; ритросульфамом; ритуксимабом; роглетимидом; роквинимексом; руфокромомиицином; сабарубицином; сафинголом; сарграмостимом; сатраплатином; себриплатином; семустином; симтразеном; сизофираном; собузоксаном; сорафенибом; спарфозатом; спарфозовой кислотой; спарсомицином; спирогерманием; спиромустином; спироплатином; скваламином; стрептонигрином; стрептоварицином; стрептозоцином; суфосфамидом; сулофенуром; сунитиниб малатом; 6-TG (тиогуанином); тацединалином; тальком; тализомицином; таллимустином; тамоксифеном; тариквидаром; тауомустином; текогаланом; тегафуром; телоксантроном; темопорфином; темозоломидом; тенипозидом/VM-26; тенипозидом; тероксином; тестолактоном; тиамиприном; тиагуанином; тиотепа; тиамиприном; тиазофурином; тиломизолом; тилороном; тимкодаром; тимонациком; тирапазамином; топиксантроном; топотеканом; торемифеном; тозитумомабом; трабектедином (эктеинасцидином 743); трастузумабом; трестолоном; третиноином/ATRA; трицирибином; трилостаном; триметрексатом; триплатин тринитратом; трипторелином; трофосфамидом; тубулозолом; убенимексом; урацил ипритом; уредепа; валрубицином; валсподаром; вапреотидом; вертепорфином; винбластином; винкристином; виндезином; винепидином; винфлунином; винформидом; винглицинатом; винлейцинолом; винлейрозином; винорелбином; винрозилидином; винтриптолом; винзолидином; ворозолом; ксантомицином А (гуамециклином); зениплатином; зиласкорбом [2-Н]; зиностатином; золедронатом; зорубицином и зосухидаром.

В настоящем документе предусмотрен способ лечения заболеваний, связанных с гиалуроновой кислотой, или состояний, при которых субъекту вводят предусмотренные и описанные здесь esPH20 или PH20, или предусмотренные и описанные здесь композиции, содержащие esPH20 или PH20. Также предусмотрен способ лечения повышенного уровня гликозаминогликанов, способ лечения опухолей, лечения накопления гликозаминогликанов в головном мозге, лечения сердечнососудистых расстройств, лечения офтальмологических расстройств, лечения легочных заболеваний, способ усиления проницаемости плотных опухолей для химиотерапевтических агентов; способ лечения целлюлита или способ увеличения биодоступности лекарственных препаратов и других терапевтических средств. Описанные способы включают введение субъекту любых описанных здесь полипептидов esPH20 или PH20 или композиций.

Предусмотренные в данном изобретении полипептиды esPH20 и PH20 могут быть использованы вместо гиалуронидазы PH20, отдельно или в комбинации, в любых методах лечения или в комбинированной терапии, для которых гиалуронидазу PH20 используют в опубликованных заявках США №№ US20040268425, US20050260186 и US20060104968 и заявках США №№ 12/381,844, 12/386,249, 12/387,225 и 12/386,222.

### **Краткое описание Фигур**

На Фигуре 1 представлены выравненные аминокислотные последовательности полипептидов PH20 человека (SEQ ID NO: 107) и шимпанзе (SEQ ID NO: 197) (выравнены с помощью программы выравнивания ClustalW2). Аминокислотные остатки сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря человеческого PH20, а также соответствующие аминокислоты в последовательности PH20 шимпанзе выделены жирным шрифтом и подчеркиванием. Символ "\*" указывает, что расположенные выше остатки одинаковы для обеих выровненных последовательностей. Символ ":" указывает консервативные замены и символ "." указывает полуконсервативные замены.

На Фигуре 2 приведены основные типы N-гликанов у позвоночных, в том числе богатые маннозой гликаны, гибридные гликаны и сложные гликаны.

На Фигуре 3 показаны сайты расщепления эндогликозидазой.

На Фиг. 3A показаны сайты расщепления для эндогликозидазы F1 и пептид N-гликозидазы F (ПНГазы F).

На Фиг. 3B приведены сайты расщепления для эндогликозидазы F2 и ПНГазы F.

На Фиг. 3C приведены сайты расщепления для эндогликозидазы F3 и ПНГазы F.

На Фиг. 3D приведены сайты расщепления для эндогликозидазы F4 и ПНГазы F.

### **Подробное раскрытие изобретения**

Обзор

**A. Определения**

**B. Обзор**

1. PH20

a. Гликозилирование

b. GPI-якорь

**C. Длинные растворимые полипептиды PH20**

1. Человеческие полипептиды esPH20

2. Полипептиды esРН20 других видов

**D. Частично гликозилированные полипептиды РН20**

1. Полипептиды РН20
2. Укороченные с С-конца полипептиды РН20
3. Дополнительные модификации

Конъюгирование с полимерами

**E. Методы получения нуклеиновых кислот, кодирующих длинные растворимые гиалуронидазы РН20 и другие гиалуронидазы РН20, а также самих полипептидов**

1. Векторы и клетки
2. Экспрессия
  - a. Прокариотические клетки
  - b. Клетки дрожжей
  - c. Клетки насекомых
  - d. Клетки млекопитающих
  - e. Растения
3. Способы очистки

**F. Подготовка, получение композиций и введение длинных растворимых полипептидов РН20 и других растворимых полипептидов РН20**

1. Растворы и эмульсии для инъекций

Лиофилизированные порошки
2. Местное введение
3. Композиции для других способов введения
4. Способы введения и дозы
5. Упаковка, изделия и наборы

**G. Анализы**

1. Гиалуронидазная активность
2. Растворимость

**H. Способы лечения и применения длинных растворимых РН20 и других растворимых РН20 и комбинированная терапия**

1. Применение в качестве агента для распространения и для комбинированной терапии
2. Применение для удаления избытка гликозаминогликанов
  - a. Применение в лечении рака

- b. Применение в лечении накопления гликозаминогликанов в мозге
  - c. Применение в лечении накопления гликозаминогликанов при сердечнососудистых заболеваниях
  - d. Применение в витрэктомии и при офтальмологических нарушениях и состояниях
  - e. Применение при гиподермолизе
  - f. Применение в генной терапии
  - g. Косметическое применение
  - h. Применение при трансплантации органов
  - i. Применение при заболеваниях легких
3. Другие области применения

## **I. Примеры**

### **A. Определения**

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые здесь, имеют то же значение, как это обычно понимается специалистом в области техники, к которой относится изобретение. Все патенты, патентные заявки, опубликованные заявки и публикации, последовательности Genbank, базы данных, веб-сайты и другие печатные материалы, упомянутые на протяжении всего приведенного здесь раскрытия, если не указано иное, включены в настоящий документ в качестве ссылки в полном объеме. В случае, если существует множество определений упомянутого в данном изобретении термина, преимущественную силу имеет определение, приведенное в этом разделе. Если в данном изобретении приведена ссылка на URL или другой такой идентификатор или адрес, то подразумевается, что такой идентификатор может измениться и конкретная информация в сети Интернет может появиться и исчезнуть, однако эквивалентную информацию можно найти с помощью функции поиска в Интернете. Такая ссылка свидетельствует о наличии и публичном распространении такой информации.

В настоящем документе гиалуронидазы относятся к классу ферментов, которые разрушают гиалуроновую кислоту. Гиалуронидазы включают, но не ограничиваются, бактериальными гиалуронидазами (ЕС 4.2.2.1 или ЕС 4.2.99.1), гиалуронидазами пиявок, других паразитов и ракообразных (ЕС 3.2.1.36), и гиалуронидазами млекопитающих (ЕС 3.2.1.35). Гиалуронидазы включают любые гиалуронидазы не человеческого происхождения, включая, но не ограничиваясь,



мышинными, собачьими, кошачьими, заячьими, птичьими, бычьими, овечьими, свиными, лошадиными, рыбьими, лягушачьими, бактериальными гиалуронидазами, и гиалуронидазами пиявок, других паразитов и ракообразных. Примеры человеческих гиалуронидаз включают HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4 и PH20 (SEQ ID NO: 107). Также гиалуронидазы включают растворимые гиалуронидазы, включая баранью и бычью PH20, растворимую человеческую PH20 и rHuPH20. Примеры коммерчески доступных бычьих или овечьих растворимых гиалуронидаз включают гиалуронидазу Vitrase® (овечья гиалуронидаза) и гиалуронидазу Amphadase® (бычья гиалуронидаза).

В настоящем документе PH20 относится к типу гиалуронидазы, который встречается в сперме и активен в нейтральной среде. PH20 локализована на поверхности сперматозоидов, в акросоме лизосомного происхождения, где она связана с внутренней акросомной мембраной. PH20 включают гиалуронидазы любого происхождения, включая, но не ограничиваясь, человеческой гиалуронидазой, гиалуронидазой шимпанзе, обезьяны циномолгус, обезьяны резус, мышинной, бычьей, бараньей гиалуронидазой, гиалуронидазой морской свинки, кроличьей и крысиной гиалуронидазой. Примеры полипептидов PH20 включают гиалуронидазы человека (SEQ ID NO: 107), шимпанзе (SEQ ID NO: 197), обезьяны резус (SEQ ID NO: 198), обезьяны циномолгус (SEQ ID NO: 114), коровы (например, SEQ ID NOS: 111 и 119), мыши (SEQ ID NO: 117), крысы (SEQ ID NO: 116), кролика (SEQ ID NO: 112), овцы (SEQ ID NOS: 113, 118 и 120) и морской свинки (SEQ ID NO: 115). Понятие PH20 включает полипептиды-предшественники PH20 и зрелые полипептиды PH20 (например, полипептиды, в которых удалена сигнальная последовательность), их усеченные формы, обладающие активностью, включает аллельные варианты и видовые варианты, варианты сплайсинга и другие варианты, включая полипептиды с 40%, 45%, 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или большей идентичностью последовательности с полипептидом-предшественником, приведенным в SEQ ID NO: 107 и 109, или их зрелые формы. PH20 также включают полипептиды, содержащие химические или посттрансляционные модификации, а также полипептиды без химических или посттрансляционных модификаций. Такие модификации включают, но не ограничиваются пегилированием, альбуминированием, гликозилированием, фарнезилированием, карбоксилированием, гидроксильным, фосфорилированием, а также другими модификациями полипептидов, известными в уровне техники. Усеченные гиалуронидазы PH20 относятся к любой усеченной с С-

конца форме гиалуронидазы, в частности, к усеченной и активной в нейтральной среде при наличии N-гликозилирования гиалуронидазе.

В настоящем документе растворимая РН20 относится к любой форме РН20, которая является растворимой в физиологических условиях. Растворимая РН20 может быть идентифицирована, например, по распределению в водную фазу раствора Тритон® X-114 при температуре 37°C (Bordier и др., (1981) *J. Biol. Chem.*, 256:1604-7). Заякоренная в мембране РН20, такая как заякоренная липидом РН20, включая GPI-заякоренную РН20, переходит в обогащенную детергентом фазу, но переходит в обедненную детергентом или водную фазу после обработки фосфолипазой-С. Растворимые РН20 включают заякоренные в мембране РН20, в которых один или несколько районов, связанных с заякорением РН20 в мембране, удален или изменен, где растворимая форма сохраняет гиалуронидазную активность. Растворимые РН20 также включают рекомбинантные растворимые РН20 и полипептиды, содержащиеся в природных источниках или очищенные из природных источников, таких как, например, экстракт из овечьих или коровьих яиц. Примером таких растворимых РН20 является растворимая человеческая РН20.

В настоящем документе растворимая человеческая РН20 или sHuРН20 включает полипептиды РН20, в которых отсутствует вся сигнальная последовательность присоединения гликозилфосфатидилинозитольного (GPI) якоря на С-конце или ее часть, так что после экспрессии полипептиды являются растворимыми в физиологических условиях. Растворимость можно оценить с помощью любого подходящего метода, который демонстрирует растворимость в физиологических условиях. Примером такого метода является описанный выше и в Примерах анализ с Тритон® X-114, при котором оценивают распределение полипептида между водной и неполярной фазами. Кроме того, растворимый человеческий полипептид РН20 при получении в клетках СНО, например, клетках СНО-S, экспрессируется и секретируется в культуральную среду. Растворимые человеческие полипептиды РН20, однако, не ограничиваются получаемым в клетках СНО полипептидом, полипептид может быть получен в любом типе клеток или любым другим способом, включая рекомбинантную экспрессию и синтез полипептида. Указание на секрецию в клетках СНО является дефиниционным. То есть, если полипептид может быть экспрессирован и секретирован в клетках СНО и является растворимым, т.е. полипептид переходит в водную фазу при экстракции Тритоном® X-114, он представляет собой растворимый полипептид РН20 в не зависимости от того, как он получен. Полипептиды-предшественники полипептидов

sHuPH20 могут включать сигнальную последовательность, такую как гетерологичную или не гетерологичную (т.е. нативную) сигнальную последовательность. Примерами предшественников являются полипептиды, которые включают сигнальную последовательность, такую как нативную сигнальную последовательность из 35 аминокислот, соответствующую положениям 1-35 (см., например, аминокислоты 1-35 из SEQ ID NO: 107).

В настоящем документе "длинная растворимая PH20" или "esPH20" включает растворимый полипептид PH20, который включает остатки до сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря и один или несколько последовательно расположенных остатков из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря, если при этом esPH20 является растворимым при физиологических условиях. Растворимость в физиологических условиях может быть определена любым способом, известным специалистам в данной области. Например, она может быть оценена с помощью анализа с Тритоном® X-114, описанного выше и в Примерах. Кроме того, как уже говорилось выше, растворимая PH20 при получении в клетках СНО, например, клетках СНО-S, представляет собой полипептид, который экспрессируется и секретируется в культуральную среду. Растворимые человеческие полипептиды PH20, однако, не ограничиваются получаемыми в клетках СНО полипептидами, но могут быть получены в любом типе клеток или любым способом, в том числе рекомбинантной экспрессией и полипептидным синтезом. Указание на секрецию в клетках СНО является дефиниционным. То есть, если полипептид может быть экспрессирован и секретирован в клетках СНО и является растворимым, т.е. полипептид переходит в водную фазу при экстракции Тритоном® X-114, он представляет собой растворимый полипептид PH20 в не зависимости о того, как он получен. Растворимые человеческие полипептиды esPH20 включают помимо остатков 36-490 одну или несколько последовательно расположенных аминокислот, начиная с позиции 491 из SEQ ID NO: 107, при условии, что полипептид является растворимым. Примеры человеческих растворимых полипептидов esPH20 включают полипептиды с аминокислотной последовательностью, соответствующей аминокислотам 36-491, 36-492, 36-493, 36-494, 36-495, 36-496 и 36-497 из SEQ ID NO: 107. Примеры также включают полипептиды с аминокислотной последовательностью, приведенной в любой из SEQ ID NOS: 60-63 и 102-104. Кроме того, примеры включают аллельные варианты и другие варианты с 40%, 45%, 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93 %, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% и большей идентичностью

последовательности с соответствующими полипептидами из SEQ ID NO: 60-63 и 102-104 при условии сохранения ими активности в нейтральной среде и растворимости. Указание идентичности последовательности относится к вариантам с аминокислотными заменами.

В настоящем документе esPH20 включает предшественников полипептидов esPH20 и зрелые полипептиды esPH20 (в которых удалена сигнальная последовательность), их усеченные формы, которые сохраняют ферментативную активность (сохраняют, по меньшей мере, 1%, 10%, 20%, 30 %, 40%, 50% или более от активности полноразмерной формы) и которые являются растворимыми, и включает аллельные и видовые варианты, варианты сплайсинга и другие варианты, в том числе полипептиды, по меньшей мере, с 40%, 45%, 50%, 55%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или большей идентичностью последовательности по сравнению с полипептидом-предшественником, приведенным в SEQ ID NOS: 107 и 109, или его зрелой формой.

В настоящем документе esPH20 также относится к полипептидам с химическими или посттрансляционными модификациями и полипептидам без химических или посттрансляционных модификаций. Такие модификации включают, но не ограничиваются, пегилированием, альбуминированием, гликозилированием, фарнезилированием, карбоксилированием, гидроксилированием, фосфорилированием, а также другими модификациями полипептидов, известными в уровне техники.

В настоящем документе растворимая рекомбинантная человеческая PH20 (rHuPH20) относится к растворимой форме человеческой PH20, экспрессированной рекомбинантно и секретированной в клетках яичников китайского хомячка (CHO). Растворимая rHuPH20 кодируется включающей сигнальную последовательность нуклеиновой кислотой, которая приведена в SEQ ID NO: 109. Также предусмотрены молекулы ДНК, представляющие собой ее аллельные варианты, и другие растворимые варианты. Кодирующие растворимую rHuPH20 нуклеиновые кислоты экспрессируют в клетках CHO, которые секретируют зрелый полипептид. При получении в культуре наблюдается гетерогенность белка на С-конце, так что продукт представляет собой смесь полипептидов, включающих один или более из полипептидов SEQ ID NO: 122 - SEQ ID NO: 127 в различном количественном соотношении.

Аналогично для других форм PH20, таких как esPH20, рекомбинантно экспрессированные полипептиды и композиции могут включать множество видов

полипептидов с гетерогенностью на С-конце. Например, композиции с рекомбинантно экспрессированной esPH20, полученной экспрессией полипептида SEQ ID NO: 8, который кодирует esPH20, включающей аминокислоты 36-497, могут включать формы с меньшим количеством аминокислот, например, 36-496, 36-495.

В настоящем документе N-замещенный остаток относится к аминокислотному остатку аспарагина (N) в полипептиде, который может быть посттрансляционно модифицирован гликозилированием. Примеры N-замещенных остатков в PH20 человека включают аминокислоты N82, N166, N235, N254, N368 и N393 человеческого полипептида PH20, приведенного в SEQ ID NO: 107.

В настоящем документе N-гликозилированный полипептид относится к полипептиду PH20 или его усеченной форме, содержащим, по меньшей мере, три олигосахарида, присоединенных к N-замещенным остаткам аминокислот, например, N-замещенным остаткам, соответствующим остаткам N235, N368 и N393 из последовательности SEQ ID NO: 107. N-гликозилированный полипептид включает полипептид, в котором к трем, четырем, пяти или всем N-замещенным остаткам присоединены олигосахариды. N-связанные олигосахариды могут включать олигоманнозы, сложные, гибридные или сульфатированные олигосахариды, или другие олигосахариды и моносахариды.

В настоящем документе N-гликозилированный полипептид относится к полипептиду, который содержит, по меньшей мере, N-ацетилглюкозаминовый гликан, присоединенный, по меньшей мере, к трем N-замещенным остаткам. Частично гликозилированный полипептид может включать различные формы гликанов, в том числе моносахариды, олигосахариды и разветвленные сахара, в том числе образовавшиеся при обработке полипептида EndoH, EndoF1, EndoF2 и/или EndoF3. Расщепление гликанов указанными ферментами представлено, например, на Фигуре 2.

В настоящем документе дегликозилированный полипептид PH20 относится к предусмотренному в данном изобретении полипептиду PH20, в котором гликозилированы не все возможные сайты гликозилирования. Дегликозилирование может быть осуществлено, например, удалением сахаров, путем предупреждения гликозилирования или изменением полипептидной цепи для устранения сайтов гликозилирования. Как описано в данном изобретении, некоторые сайты N-гликозилирования не нужны для проявления активности, в то время как другие необходимы.

В настоящем документе связанные с гиалуроновой кислотой заболевания, расстройства или состояния относятся к любому заболеванию или состоянию, при котором в качестве причины, последствия или иного фактора наблюдается повышение уровня гиалуроновой кислоты. Связанные с гиалуроновой кислотой заболевания и состояния сопровождаются повышенной экспрессией гиалуроновой кислоты в тканях или клетках, увеличением давления интерстициальной жидкости, снижением сосудистого объема и/или повышением содержания воды в тканях. Связанные с гиалуроновой кислотой заболевания, нарушения или состояния можно лечить введением композиции, содержащей расщепляющий гиалуронан фермент, такой как гиалуронидазу, например, растворимую гиалуронидазу, причем лечение можно проводить указанной композицией отдельно, либо в сочетании или в дополнение к другому виду лечения и/или агенту. Примеры заболеваний и состояний включают, но не ограничиваются богатыми гиалуронатом раками, например, опухолями, в том числе плотными опухолями, такими как опухоли на поздней стадии рака, метастатическими раками, недифференцированными раками, раком яичников, раком *in situ* (ISC), плоскоклеточным раком (SCC), раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, мелкоклеточным раком легкого, раком молочной железы, раком толстой кишки и другими видами рака. Также примерами связанных с гиалуроновой кислотой заболеваний или состояний являются заболевания, связанные с повышенным давлением интерстициальной жидкости, такие как связанные с внутридисковым давлением заболевания, и отеки, например, отек при пересадке органов, инсульте, травме мозга или другой травме. Примеры связанных с гиалуроновой кислотой заболеваний или состояний включают заболевания и состояния, связанные с повышением давления интерстициальной жидкости, снижением сосудистого объема и/или повышением содержания воды в тканях, включая рак, повышенное внутридисковое давление и отеки. В одном из примеров лечение связанного с гиалуроновой кислотой заболевания, состояния или нарушения приводит к улучшению, уменьшению или другому полезному эффекту по отношению к повышенному давлению интерстициальной жидкости (IFP), сниженному сосудистому объему и повышенному содержанию воды в тканях.

В настоящем документе конъюгат относится к растворимым полипептидам PH20, связанным напрямую или не напрямую с одним или несколькими другими полипептидами или химическими фрагментами. Такие конъюгаты включают слитые белки, полученные химическим конъюгированием или с применением любого другого метода, где, по меньшей мере, один растворимый полипептид PH20 связан

напрямую или не напрямую с другим полипептидом или химическим фрагментом, при этом конъюгат сохраняет гиалуронидазную активность. Примеры конъюгатов по настоящему изобретению включают полипептиды РН20, связанные напрямую или не напрямую с доменом мультимеризации, таким как Fc-фрагмент, токсином, меткой или лекарством.

В настоящем документе белок слияния относится к полипептиду, кодируемому нуклеиновой кислотой, содержащей кодирующую последовательность из одной молекулы нуклеиновой кислоты и кодирующую последовательность из другой молекулы нуклеиновой кислоты, в которой кодирующие последовательности находятся в одной рамке считывания, так что транскрипция и трансляция гибридной конструкции в клетке-хозяине приводит к белку, включающему два белка. Две молекулы могут непосредственно соседствовать в конструкции или могут быть разделены линкерным полипептидом, который содержит 1, 2, 3 или более аминокислот, но обычно менее чем 10, 9, 8, 7 или 6 аминокислот. Белковый продукт, кодируемый гибридной конструкцией, называют белком слияния. Примеры белков слияния включают слитые с Fc белки.

В настоящем документе полимер, конъюгированный с разрушающим гиалуроновую кислоту ферментом, таким как гиалуронидаза, относится к любому полимеру, который ковалентно или иным образом стабильно связан, напрямую или через линкер, с разрушающим гиалуроновую кислоту ферментом. Такие полимеры, как правило, увеличивают период полураспада белка в сыворотке, и включают, но не ограничиваются полимерами из остатков сиаловой кислоты, фрагментами полиэтиленгликоля, декстраном, сахарами и другими фрагментами, например, присоединяемыми при гликозилировании.

В настоящем документе активность относится к функциональной активности или активностям полипептида или его части, связанным с активностью полноразмерного (целого) белка. Функциональная активность включает, но не ограничивается биологической активностью, каталитической и ферментативной активностью, антигенностью (способностью связывать или конкурировать с полипептидом за связывание с антителами против полипептида), иммуногенностью, способностью образовывать мультимеры и способностью специфически связывать рецепторы или лиганды полипептида.

В настоящем документе гиалуронидазная активность относится к способности ферментативно катализировать расщепление гиалуроновой кислоты. В тесте фармакопеи США (USP) XXII издания на гиалуронидазу гиалуронидазную

активность определяют косвенно, измеряя оставшееся количество высокомолекулярной гиалуроновой кислоты или гиалуронана в качестве субстрата после проведения ферментативной реакции с ГК в течение 30 мин при 37°C (USP-NF XXII XVII (1990) 644-645, Конвенция о Фармакопее США, Роквилл, штат Мэриленд). Для определения относительной активности любой гиалуронидазы в единицах активности в анализе может быть использован стандартный раствор сравнения. Для определения гиалуронидазной активности гиалуронидаз, например, PH20, в том числе растворимой PH20 и esPH20, известны в уровне техники и описаны здесь *in vitro* анализы. Примеры анализов включают анализ микромутности, описанный ниже (см., например, Пример 12), при котором расщепление гиалуроновой кислоты гиалуронидазой измеряют косвенно по нерастворимому осадку, образующемуся при связывании нерасщепленной гиалуроновой кислоты с сывороточным альбумином. Для построения стандартной кривой для определения активности исследуемой гиалуронидазы в единицах активности могут быть использованы стандартные образцы.

В настоящем документе активность в нейтральной среде относится к способности полипептида PH20 ферментативно катализировать расщепление гиалуроновой кислоты при нейтральном pH. Активная в нейтральной среде укороченная с С-конца или частично N-гликозилированная PH20 по настоящему документу обладает приблизительно 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94 %, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000% активности или большей активностью по сравнению с гиалуронидазной активностью соответствующей активной в нейтральной среде не укороченной с С-конца или не частично N-гликозилированной PH20.

В настоящем документе сигнальная последовательность присоединения GPI-якоря является С-концевой аминокислотной последовательностью, которая направляет присоединение предварительно синтезированного GPI-якоря к полипептиду в просвете ЭР. Сигнальная последовательность присоединения GPI-якоря присутствует в предшественниках полипептидов с GPI-якорем, таких как полипептиды PH20 с GPI-якорем. С-концевая сигнальная последовательность присоединения GPI-якоря, как правило, содержит преимущественно гидрофобную область из 8-20 аминокислот, которой предшествует гидрофильный спейсер из 8-12 аминокислот, расположенный непосредственно после  $\omega$ -сайта или сайта присоединения GPI-якоря. Сигнальная последовательность присоединения GPI-



якоря может быть легко идентифицирована с помощью хорошо известных в уровне техники методов. Они включают, но не ограничиваются *in silico* методами и алгоритмами (см., например Udenfriend и др. (1995) *Methods Enzymol.* 250:571-582, Eisenhaber и др., (1999) *J. Biol. Chem.* 274: 741-758, Kronegg и Buloz, (1999), "Detection/prediction of GPI cleavage site (GPI-anchor) in a protein (DGPI)", например, вебсайт [129.194.185.165/dgpi/](http://129.194.185.165/dgpi/), Fankhauser и др., (2005) *Bioinformatics* 21:1846-1852, Omaetxebarria и др., (2007) *Proteomics* 7:1951-1960, Pierleoni и др., (2008) *BMC Bioinformatics* 9:392), а также протоколы, легко доступные на биоинформатических вебсайтах, таких как вебсайт ExPASy Proteomics tools (вебсайт [expasy.ch/tools/](http://expasy.ch/tools/)).

В настоящем документе бифукозилированный полипептид относится к полипептиду, который включает два остатка фукозы, присоединенных к N-ацетилглюкозаминовому ядру, где один остаток присоединен  $\alpha$ -1,3-связью, а другой остаток присоединен  $\alpha$ -1,6-связью, а N-ацетилглюкозаминовый фрагмент связан с остатком аспарагина в полипептидной цепи. Бифукозилированные полипептиды обычно производятся в клетках насекомых.

В настоящем документе нуклеиновые кислоты включают ДНК, РНК и их аналоги, в том числе пептидные нуклеиновые кислоты (ПНК), и их смеси. Нуклеиновые кислоты могут быть одноцепочечными или двухцепочечными. При упоминании зондов или праймеров, необязательно меченых, например, обнаруживаемой меткой, например, люминесцентной или радиоактивной меткой, предусмотрены одноцепочечные молекулы. Длина таких молекул, как правило, достаточна для того, чтобы их мишень при гибридизации или праймировании библиотеки была статистически уникальна или была представлена низким числом копий (обычно менее 5, как правило, менее 3). Обычно зонд или праймер содержит последовательность, по меньшей мере, из 14, 16 или 30 расположенных подряд нуклеотидов, комплементарную или идентичную последовательности представляющего интерес гена. Зонды и праймеры могут включать 10, 20, 30, 50, 100 или более нуклеотидов в длину.

В настоящем документе пептид относится к полипептиду, длина которого больше или равна 2 аминокислотам и меньше или равна 40 аминокислотам.

В настоящем документе аминокислоты, встречающиеся в различных приведенных в данном изобретении последовательностях аминокислот, определяются в соответствии с их известными, трехбуквенными или однобуквенными обозначениями (Табл. 1). Нуклеотиды, встречающиеся в

различных фрагментах нуклеиновых кислот, обозначены стандартными однобуквенными обозначениями, рутинно употребляемыми в уровне техники.

В настоящем документе термин "аминокислота" относится к органическому соединению, содержащему аминогруппу и карбоксильную группу. Полипептид содержит две или более аминокислот. В настоящем изобретении аминокислоты включают двадцать природных аминокислот, неприродные аминокислоты и аналоги аминокислот (например, аминокислоты с боковой цепью у  $\alpha$ -атома углерода).

В настоящем документе термин "аминокислотный остаток" относится к аминокислоте, образующейся при химическом расщеплении (гидролизе) полипептида по пептидным связям. Аминокислотные остатки по настоящему документу находятся в "L" изомерной форме. Остатки в "D" изомерной форме, обозначенные таким образом, могут быть заменены на любой остаток L-аминокислоты, если при этом полипептид сохраняет желаемое свойство.  $\text{NH}_2$  относится к свободной аминогруппе, присутствующей на аминоконце полипептида.  $\text{COOH}$  относится к свободной карбоксильной группе, присутствующей на карбоксильном конце полипептида. Аббревиатуры для обозначения аминокислотных остатков, соответствующие стандартной полипептидной номенклатуре, описанной в *J. Biol. Chem*, 243. 3557-3559 (1968) и принятой 37 C.F.R. §§ 1.821-1.822, приведены в Таблице 1:

Таблица 1 - Таблица соответствия

| Символ                    |                           | Аминокислота         |
|---------------------------|---------------------------|----------------------|
| Однобуквенное обозначение | Трехбуквенное обозначение |                      |
| Y                         | Tyr                       | тирозин              |
| G                         | Gly                       | глицин               |
| F                         | Phe                       | фенилаланин          |
| M                         | Met                       | метионин             |
| A                         | Ala                       | аланин               |
| S                         | Ser                       | серин                |
| I                         | Ile                       | изолейцин            |
| L                         | Leu                       | лейцин               |
| T                         | Thr                       | валин                |
| V                         | Val                       | треонин              |
| P                         | Pro                       | пролин               |
| K                         | Lys                       | лизин                |
| H                         | His                       | гистидин             |
| Q                         | Gln                       | глутамин             |
| E                         | Glu                       | глутаминовая кислота |
| Z                         | Glx                       | Gln и/или Glu        |

| Символ |     | Аминокислота           |
|--------|-----|------------------------|
| W      | Trp | триптофан              |
| R      | Arg | аргинин                |
| D      | Asp | аспарагиновая кислота  |
| N      | Asn | аспарагин              |
| B      | Asx | Asn и/или Asp          |
| C      | Cys | цистеин                |
| X      | Xaa | неизвестная или другая |

Все последовательности аминокислотных остатков представлены в данном изобретении в виде формул при ориентации слева направо в обычном направлении от amino-конца к карбоксильному концу. Термин "аминокислотный остаток" включает аминокислоты, перечисленные в Таблице соответствия (Табл. 1), и модифицированные и необычные аминокислоты, такие как указанные в приведенных здесь в качестве ссылки §§ 1.821-1.822 37 C.F.R. аминокислоты. Кроме того, следует отметить, что тире в начале или в конце последовательности аминокислотных остатков обозначает пептидную связь с последовательностью из одного или более аминокислотных остатков, связь с amino-концевой группой, такой как  $\text{NH}_2$ , или карбоксильной концевой группой, такой как  $\text{COOH}$ .

В настоящем документе термин "природные  $\alpha$ -аминокислоты" относится к остаткам 20  $\alpha$ -аминокислот, встречающихся в природе, которые включаются в белок посредством специфического распознавания кодона мРНК молекулой тРНК, несущей остаток аминокислоты. Не встречающиеся в природе аминокислоты включают, например, аминокислоты или аналоги аминокислот, отличающиеся от 20 природных аминокислот и включающие, но не ограничивающиеся D-изостереомерами аминокислот. Примеры неприродных аминокислот описаны в данном изобретении и известны специалистам в данной области.

В настоящем документе ДНК-конструкция представляет собой одноцепочечную или двухцепочечную, линейную или кольцевую молекулу ДНК, которая содержит фрагменты ДНК, комбинированные и соединенные в неприродном порядке. ДНК-конструкции существуют как результат человеческой манипуляции и включают клоны и другие копии искусственных молекул.

В настоящем документе фрагмент ДНК представляет собой часть более крупной молекулы ДНК с определенными атрибутами. Например, фрагмент ДНК, кодирующий указанный полипептид, представляет собой часть большей молекулы

ДНК, такой как плазида или фрагмент плазмиды, который при чтении от 5' к 3' кодирует последовательность аминокислот указанного полипептида.

В настоящем документе термин полинуклеотид означает одноцепочечный или двухцепочечный полимер дезоксирибонуклеотидов или рибонуклеотидных оснований, читаемый от 5' к 3' концу. Полинуклеотиды включают РНК и ДНК, и могут быть выделены из природных источников, синтезированы *in vitro* или получены комбинацией натуральных и синтетических молекул. Длину полинуклеотидных молекул в данном изобретении приводят в нуклеотидах (сокращенно "нт") или парах оснований (сокращенно "по"). Определение длины в нуклеотидах применяют для одноцепочечных и двухцепочечных молекул, где позволяет контекст. Когда термин применяют к двухцепочечной молекуле, он употребляется для обозначения общей длины и эквивалентен термину пара оснований. Специалисту в данной области техники очевидно, что две цепи двухцепочечного полинуклеотида могут незначительно отличаться по длине и что концы их могут быть расположены уступом, поэтому не все нуклеотиды в двухцепочечной молекуле полинуклеотида могут образовывать пары. Такие непарные концы, как правило, не превышают в длину 20 нуклеотидов.

В настоящем документе "сходство" между двумя белки или нуклеиновыми кислотами относится к подобию аминокислотных последовательностей белков или нуклеотидных последовательностей нуклеиновых кислот. Сходство может быть определено по степени идентичности и/или гомологии последовательностей остатков и самих содержащихся в них остатков. Методы оценки степени сходства белков или нуклеиновых кислот хорошо известны специалистам в данной области. Например, в одном методе оценки сходства последовательностей две аминокислотные или нуклеотидные последовательности выравнивают таким образом, чтобы достичь максимального уровня идентичности между последовательностями. "Идентичность" относится к степени, в которой аминокислотные или нуклеотидные последовательности инвариантны. При выравнивании аминокислотных последовательностей, и в некоторой степени нуклеотидных последовательностей, также возможно учитывать консервативные различия и/или частые замены аминокислот (или нуклеотидов). Различия являются консервативными при сохранении физико-химических свойств участвующих остатков. Выравнивание может быть глобальным (выравнивание сравниваемых последовательностей по всей длине последовательностей, включая все остатки) или

локальным (выравнивание часей последовательностей, которые включают только наиболее близкие район или районы).

"Идентичность" имеет признанное в данной области значение и может быть рассчитана с применением опубликованных методов. (См., например, *Computational Molecular Biology*, Lesk, A. M., изд. Oxford University Press, Нью-Йорк, 1988; *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D.W., изд. Academic Press, Нью-Йорк, 1993; *Computer Analysis of Sequence Data*, часть I, Griffin, A.M. и Griffin, H.G., изд. Humana Press, New Jersey, 1994; *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press, 1987; и *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. and Devereux, J., изд. M Stockton Press, New York, 1991). Хотя существует множество методов определения идентичности между двумя полинуклеотидами или полипептидами, термин "идентичность" хорошо известен квалифицированному специалисту (Carillo, H., Lipton, D., *SIAM J Applied Math* 48:1073 (1988)).

В настоящем документе термин гомологичный (по отношению к последовательностям нуклеиновых кислот и/или аминокислот) означает большую или равную приблизительно 25% гомологию последовательностей, как правило, большую или равную 25%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90% или 95% гомологию последовательностей; точный процент может быть указан, если это необходимо. В настоящем документе термины "гомология" и "идентичность" часто являются взаимозаменяемыми, если отдельно не указано иное. Как правило, для определения процента гомологии или идентичности последовательности выравнивают для достижения наибольшего совпадения остатков (см., например, *Computational Molecular Biology*, Lesk, A.M., изд. Oxford University Press, New York, 1988; *Biocomputing: Informatics and Genome Projects*, Smith, D.W., изд. Academic Press, New York, 1993; *Computer Analysis of Sequence Data*, часть I, Griffin, A.M. и Griffin, H.G., изд. Humana Press, New Jersey, 1994; *Sequence Analysis in Molecular Biology*, von Heinje, G., Academic Press, 1987; и *Sequence Analysis Primer*, Gribskov, M. и Devereux, J., изд. M Stockton Press, New York, 1991; Carillo и др. (1988) *SIAM J Applied Math* 48:1073). Для определения гомологии последовательностей количество консервативных аминокислот определяют с помощью стандартных алгоритмов программ выравнивания, при этом могут быть использованы установленные по умолчанию штрафы за разрыв, предусмотренные поставщиком программного обеспечения. Существенно гомологичные молекулы нуклеиновых кислот гибридизуются, как правило, при умеренно жестких условиях или при высоко жестких условиях по всей длине интересующих нуклеиновых кислот. Также

предусмотрены молекулы нуклеиновых кислот, которые включают вырожденные кодоны вместо кодонов в гибридизующихся молекулах нуклеиновых кислот.

"Идентичность" или "гомология" нуклеотидных последовательностей или аминокислотных последовательностей любых двух молекул, по меньшей мере, на 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% может быть определена с помощью известных компьютерных алгоритмов, таких как программа "FASTA", с использованием, например, параметров по умолчанию, как указано Pearson и др. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:2444 (другие программы включают пакет программ GCG (Devereux, J. и др., *Nucleic Acids Research* 12(I):387 (1984)), программы BLASTP, BLASTN, FASTA (Atschul, S.F. и др., *J Mol Biol* 215:403 (1990)); Guide to Huge Computers, Martin J. Bishop, изд. Academic Press, San Diego, 1994 и Carillo и др. (1988) *SIAM J Applied Math* 48:1073). Например, для определения идентичности может быть использована функция BLAST базы данных Национального центра биотехнологической информации. Другие коммерчески или публично доступные программы включают программу "MegAlign" от DNASTar (Мэдисон, Висконсин) и программу "Gap", разработанную компьютерной группой генетики Университета Висконсин (UWG) (Мэдисон, Висконсин). Процент гомологии или идентичности белков и/или молекул нуклеиновых кислот можно определить, например, путем сравнения их последовательностей с применением компьютерной программы GAP (см., например, Needleman и др. (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443, с изменениями от Smith и Waterman ((1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482). Программа GAP определяет сходство как отношение количества выровненных символов (например, нуклеотидов или аминокислот), которые являются идентичными, к общему числу символов в более короткой из двух последовательностей. Параметры по умолчанию для программы GAP могут включать: (1) унарную матрицу сравнения (содержащую значение 1 для идентичных символов и 0 для не идентичных) и взвешенную матрицу сравнения Gribskov и др., (1986) *Nucl. Acids Res.* 14:6745, как описано Schwartz и Dayhoff в атласе белковых последовательностей и структур Atlas Of Protein Sequence And Structure, National Biomedical Research Foundation, с. 353 - 358 (1979), (2) штраф в размере 3,0 для каждого разрыва и дополнительный штраф 0,10 для каждого символа в каждом разрыве; и (3) штраф не применяют для разрывов на концах.

Таким образом, в данном изобретении термины "идентичность" или "гомология" относятся к сравнению исходного и исследуемого полипептида или полинуклеотида. В настоящем документе термин "по меньшей мере, на 90%

идентичны" относится к проценту идентичности от 90 до 99,99 по отношению к исходной последовательности нуклеиновой кислоты или аминокислотной последовательности полипептида. Принимая для иллюстративных целей длину сравниваемого и исходного полипептидов в 100 аминокислот, идентичность на уровне 90% и более свидетельствует о том, что не более 10% аминокислот (т.е. 10 из 100 аминокислот) в исследуемом полипептиде отличается от исходного полипептида. Подобное сравнение можно провести между исследуемым и исходным полинуклеотидами. Такие различия могут быть представлены в виде точечных мутаций, случайным образом распределенных по всей длине полипептидной цепи, или они могут быть сосредоточены в одном или нескольких районах цепи различной длины вплоть до максимально допустимой, например, 10/100 отличающихся аминокислот (приблизительно, 90% идентичности). Отличия определяются как замены, вставки или делеции нуклеотидов или аминокислот. При уровне гомологии или идентичности выше приблизительно 85-90% результат не должен зависеть от выбранной программы и параметров штрафов за разрыв; такие высокие уровни идентичности могут быть легко оценены, часто с помощью ручного выравнивания без помощи программного обеспечения.

В настоящем документе выравнивание последовательностей относится к использованию гомологии (сходства и/или идентичности) для выравнивания соответствующих позиций в нуклеотидной или аминокислотной последовательности. Как правило, две или более последовательностей, которые связаны 50% и большей идентичностью, выравниваются. Набор выровненных последовательностей относится к 2 или большему количеству последовательностей, которые выровнены в соответствующих позициях, и может включать последовательности, полученные на основе РНК, такие как EST и другие кДНК, выровненные с последовательностью геномной ДНК.

В настоящем документе "праймер" относится к молекулам нуклеиновой кислоты, которые в соответствующих условиях (например, в присутствии четырех различных нуклеозидтрифосфатов и полимеризующего агента, такого как ДНК-полимераза, РНК-полимераза или обратная транскриптаза) в соответствующем буфере и при подходящей температуре могут выступать в качестве точки начала направляемого матрицей синтеза ДНК. Следует иметь в виду, что определенные молекулы нуклеиновых кислот могут служить в качестве "зонда" и в качестве "праймера". Праймеры, однако, имеют на конце 3' гидроксильную группу для удлинения. Праймеры могут быть использованы для осуществления разнообразных

методов, включая, например, полимеразную цепную реакцию (ПЦР), ПЦР с обратной транскрипцией (RT)-ПЦР, ПЦР на РНК, ЛЦР, мультиплексную ПЦР, супрессионную ПЦР, ПЦР с захватом, ПЦР с экспрессией, 3' и 5' RACE (быстрая амплификация концов кДНК), *in situ* ПЦР, ПЦР с лигированием и другие протоколы амплификации.

Используемый в данном изобретении термин "пары праймеров" относится к набору праймеров, который включает 5' праймер (вышерасположенный), который гибридизуется с 5' концом амплифицируемой (например, методом ПЦР) последовательности, и 3' праймер (нижерасположенный), который гибридизуется с 3' концом амплифицируемой последовательности.

В настоящем документе термин "специфически гибридизуется" относится к отжигу оснований молекулы нуклеиновой кислоты (например, олигонуклеотида) с целевой молекулой нуклеиновой кислоты через комплементарное спаривание. Специалистам в данной области известны *in vitro* и *in vivo* параметры, которые влияют на специфическую гибридизацию, такие как длина и состав конкретной молекулы. Особенно важные для *in vitro* гибридизации параметры дополнительно включают температуру отжига и отмывания, состав буфера и концентрацию соли. Примеры условий отмывания для удаления неспецифически связанных молекул нуклеиновых кислот включают 0,1 x SSPE, 0,1% SDS и 65°C при высокой жесткости и 0,2 x SSPE, 0,1% SDS и 50°C при умеренной жесткости. Эквивалентные условия известны в уровне техники. Специалист в данной области для достижения специфической гибридизации молекул нуклеиновой кислоты с целевыми молекулами нуклеиновой кислоты может легко изменить условия для конкретной задачи. При упоминании двух молекул нуклеиновых кислот комплементарность означает, что две нуклеотидные последовательности способны гибридизоваться, как правило, при наличии 25%, 15% или 5% не совпадающих нуклеотидов. При необходимости может быть точно указан процент комплементарности. Как правило, две молекулы выбирают таким образом, что они гибридизуются при жестких условиях.

В настоящем документе термин "в значительной степени идентичный" по отношению к продукту означает достаточно близкий продукт, в котором интересующее свойство является в значительной степени неизменным, поэтому в значительной степени идентичный продукт может быть использован вместо исходного продукта.



В настоящем документе термины "в значительной степени идентичные" или "сходные" варьируются в зависимости от контекста, как это понимает специалист в данной области техники.

В настоящем документе "аллельный вариант" или "аллельные различия" относятся к любой из двух или более альтернативных форм гена, занимающих один хромосомный локус. Аллельные различия естественно возникают в результате мутаций и могут привести к фенотипическому полиморфизму в популяциях. Генные мутации могут быть молчащими (без изменений в закодированном полипептиде) или могут приводить к полипептидам с измененной аминокислотной последовательностью. Термин "аллельный вариант" также используется здесь для обозначения белка, кодируемого аллельными вариантами гена. Обычно образцовая форма гена кодирует полипептид дикого типа и/или преобладающую форму полипептида в популяции или у одного представителя вида. Как правило, аллельные варианты, которые включают варианты между видами и внутри видов, обладают, по меньшей мере, 80%, 90% или большей идентичностью аминокислотной последовательности с формой дикого типа и/или преобладающей формой у того же вида, причем степень идентичности зависит от гена и от того, является сравнение межвидовым или внутривидовым. Как правило, внутривидовые аллельные варианты обладают, по меньшей мере, приблизительно 80%, 85%, 90%, 95% или большей идентичностью с формой дикого типа и/или преобладающей формой, в том числе 96%, 97%, 98%, 99% или большей идентичностью с формой дикого типа и/или преобладающей формой полипептида. Упоминание аллельного варианта в данном изобретении обычно относится к различиям в белках между представителями одного и того же вида.

Используемый здесь термин "аллель" является взаимозаменяемым с термином "аллельный вариант" и относится к альтернативным формам генов или их частей. Аллели занимают одинаковый локус или позицию в гомологичных хромосомах. Когда субъект имеет два одинаковых аллеля гена, субъект называется гомозиготным субъектом по этому гену или аллелю. Когда субъект имеет два различных аллеля гена, субъект называется гетерозиготным по гену. Аллели конкретного гена могут отличаться друг от друга одним нуклеотидом или несколькими нуклеотидами и могут включать изменения, такие как замены, делеции и вставки нуклеотидов. Аллель гена также может быть одной из форм гена, содержащего мутацию.

В настоящем документе "видовой вариант" относится к вариантам полипептида среди различных видов, включая различные виды млекопитающих, такие как мышь и человек. Примеры видовых вариантов, предусмотренных в данном изобретении, включают РН20 приматов, включая, но не ограничиваясь, человеком, шимпанзе, макакой и обезьяной циномолгус. Как правило, видовые варианты обладают 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% или 98% идентичностью последовательности. Соответствующие остатки у межвидовых вариантов и среди видовых вариантов могут быть определены путем сравнения и выравнивания последовательностей для достижения максимального числа соответствующих нуклеотидов или остатков, например, при идентичности между последовательностями 95% или более, 96% или более, 97% или более, 98% или более, или 99% или более. Интересующему положению затем присваивают номер по сравниваемой молекуле нуклеиновой кислоты. Выравнивание может осуществляться вручную, особенно при уровне идентичности последовательностей, превышающем 80%. Например, представленное на Фигуре 1 выравнивание показывает, что аминокислотный остаток 491 человеческой РН20 соответствует аминокислотному остатку 491 РН20 шимпанзе и аминокислотный остаток 497 человеческой РН20 соответствует аминокислотному остатку 498 РН20 шимпанзе.

В настоящем документе "вариант сплайсинга" относится к варианту, образованному в результате различного процессинга первичного транскрипта геномной ДНК, что приводит более чем к одному типу мРНК.

Используемый здесь термин "промотор" означает часть гена, содержащую последовательность ДНК, которая обеспечивает связывание РНК-полимеразы и инициацию транскрипции. Промоторная последовательность обычно, но не всегда, находится в 5'-некодирующей области гена.

В настоящем документе "выделенный" или "очищенный" полипептид или белок или его биологически активная часть практически не содержит клеточного материала или других загрязняющих белков из клеток или тканей, из которых происходит белок, или является в значительной степени свободным от химических веществ-предшественников и других химических веществ при его химическом синтезе. Препараты могут быть определены как существенно чистые, если они являются свободными от легко обнаруживаемых примесей, определяемых с помощью стандартных способов анализа, таких как тонкослойная хроматография (ТСХ), гель-электрофорез и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), используемых специалистами в области техники для оценки чистоты, или

препараты могут быть определены как достаточно чистые, если дальнейшая очистка не изменяет физические и химические свойства вещества, такие как энзиматическая и биологическая активность. Способы очистки соединений для получения существенно химически чистых соединений известны специалистам в данной области. Существенно химически чистые соединения, однако, могут представлять собой смесь стереоизомеров. В таких случаях дополнительная очистка может увеличить удельную активность соединения.

Таким образом, упоминание существенно очищенного полипептида, например, существенно очищенного длинного растворимого РН20, относится к препаратам белка РН20, которые практически не содержат клеточного материала и включают препараты белков, в которых белок отделен от компонентов клеток, из которых был выделен, или в которых получен рекомбинантно. В одном варианте термин "практически не содержащий клеточного материала" относится к препаратам белков-ферментов, содержащим менее чем приблизительно 30% (по сухому весу) белков не-ферментов (также называемых в данном изобретении загрязняющими белками), как правило, содержащим менее 20% белков не-ферментов, 10% белков не-ферментов или менее чем приблизительно 5% белков не-ферментов. Если белок-фермент получен рекомбинантно, препарат должен практически не содержать культуральной среды, т.е. содержание культуральной среды составляет менее приблизительно 20%, 10% или 5% от объема препарата белка-фермента.

Используемый здесь термин "практически не содержит химических веществ-предшественников и других химических веществ" относится к препарату фермента, в котором белок отделен от химических веществ-предшественников и других химических веществ, которые использовали в синтезе белка. Этот термин включает препараты фермента, содержащие менее 30% (на сухой вес), 20%, 10%, 5% или менее химических веществ-предшественников или химических веществ и компонентов, не являющихся ферментом.

В настоящем документе термин "синтетический", употребляемый, например, по отношению к синтетическим молекулам нуклеиновой кислоты, синтетическим генам или синтетическим пептидам относится к молекуле нуклеиновой кислоты или полипептиду, которые получают с помощью рекомбинантных методов и/или методов химического синтеза.

В настоящем документе "получение рекомбинантными методами или с помощью методов рекомбинантной ДНК" означает использование известных

методов молекулярной биологии для экспрессии белков, кодируемых клонированной ДНК.

В настоящем документе "вектор" (или плаزمида) относится к дискретному элементу, который используется для введения гетерологичных нуклеиновых кислот в клетки для их экспрессии или репликации. Векторы обычно остаются в эпизомном состоянии, но могут быть разработаны векторы для интеграции гена или его части в хромосому генома. Также предусмотрены векторы, которые представляют собой искусственные хромосомы, такие как бактериальные искусственные хромосомы, искусственные хромосомы дрожжей и искусственные хромосомы млекопитающих. Процедуры выбора и использования таких векторов хорошо известны специалистам в данной области.

В настоящем документе "вектор экспрессии" включает векторы, способные экспрессировать ДНК, функционально связанную с регуляторными последовательностями, такими как промоторные районы, которые способны вызывать экспрессию таких фрагментов ДНК. Дополнительные последовательности могут включать промоторные и терминаторные последовательности и, при необходимости, могут включать одну или несколько точек начала репликации, один или более маркеров для отбора, энхансер, сигнал полиаденилирования и тому подобное. Векторы экспрессии обычно получают из плазмидной или вирусной ДНК, или вектор может содержать элементы того и другого. Таким образом, вектор экспрессии относится к рекомбинантным ДНК или РНК конструкциям, например, плазмидам, бактериофагам, рекомбинантным вирусам или другим векторам, которые после введения в соответствующую клетку-хозяина приводят к экспрессии клонированной ДНК. Соответствующие векторы экспрессии хорошо известны специалистам в данной области и включают векторы, которые реплицируются в эукариотических клетках и/или прокариотических клетках, векторы, которые остаются в эпизомном состоянии, или векторы, которые интегрируются в геном клетки-хозяина.

В настоящем документе вектор также включает "вирусный вектор" или "вирусные векторы". Вирусные векторы представляют собой сконструированные вирусы, функционально связанные с экзогенным геном для передачи (как носитель или челнок) экзогенного гена в клетки.

В настоящем документе термины "функционально" или "функционально связанный" по отношению к сегментам ДНК означают, что сегменты расположены так, что они функционируют в соответствии с их назначением, например,

транскрипция инициируется после промотора и до начала любой транскрибируемой последовательности. Промотор, как правило, представляет собой домен, с которым, начиная транскрипцию, связывается транскрипционный комплекс, который затем проходит через кодирующий сегмент до терминатора.

В настоящем документе термин "оценка" относится к качественному и количественному определению абсолютного значения активности белка или его домена, присутствующих в образце, а также к получению индекса, коэффициента, процента, визуального показателя или другого показателя уровня активности. Оценка может быть прямой или косвенной, и химические вещества, определяемые в процессе исследования, не обязательно должны представлять собой непосредственно продукт реакции, но могут представлять собой, например, производные или некоторые дополнительные вещества. Например, обнаружение продукта расщепления белка комплемента можно проводить, например, с помощью SDS-PAGE и окрашивания белка Кумасси синим.

Используемый здесь термин "биологическая активность" относится к активности соединения *in vivo* или к физиологической реакции, которая проявляется при *in vivo* введении соединения, композиции или другой смеси. Биологическая активность, таким образом, охватывает терапевтический эффект и фармацевтическую активность таких соединений, композиций и смесей. Биологическую активность можно наблюдать в *in vitro* системах, предназначенных для исследования или использования такой активности. Таким образом, например, биологическая активность протеазы представляет собой ее каталитическую активность, при которой происходит гидролиз полипептида.

Используемый в данном изобретении термин "эквивалент" в отношении двух последовательностей нуклеиновых кислот означает, что две интересующие последовательности кодируют одну последовательность аминокислот или эквивалентные белки. Термин "эквивалент" в отношении двух белков или пептидов означает, что два белка или пептида обладают в значительной степени одинаковой аминокислотной последовательностью и включают только такие аминокислотные замены, которые существенно не изменяют активности или функции белка или пептида. Термин "эквивалент" в отношении свойства не обязательно означает, что свойство присутствует в той же степени (например, два пептида могут проявлять одну ферментативную активность при разной скорости катализа), но при этом активность, как правило, остается в значительной мере одинаковой.

В настоящем документе термины "модулирует" и "модуляция" или "изменяет" относятся к изменению активности молекулы, такой как белок. Примеры активности включают, но не ограничиваются биологической активностью, такой как передача сигнала. Модуляция может включать повышение активности (т. е. усиление активности или агонистическую активность), снижение активности (т. е. ослабление активности или ингибирование) или любые другие изменения активности (такие как изменения периодичности, частоты, длительности, кинетики или другого параметра). Термин "модуляция" зависит от контекста, как правило, модуляция относится к изменению параметра одного объекта по сравнению с другим указанным объектом, например, белком дикого типа, белком в основном состоянии или белком, экспрессируемым в указанном типе клеток или при определенном состоянии.

В настоящем документе "композиция" относится к любой смеси. Композиция может представлять собой раствор, суспензию, жидкость, порошок, пасту, может быть водной или неводной или представлять собой комбинацию указанных типов.

В настоящем документе "комбинация" относится к любому соединению двух или более элементов. Комбинация может представлять собой два или более отдельных элемента, таких как две композиции или две совокупности, может представлять собой их смесь, например смесь двух или более элементов, или любые их вариации. Элементы комбинации, как правило, функционально связаны или сходны.

Используемый здесь термин "заболевание или нарушение" относится к патологическим состояниям организма, которые возникли в результате факторов или состояний, включающих, но не ограничивающихся инфекцией, приобретенными состояниями, генетическими состояниями, и характеризуются идентифицируемыми симптомами. Заболевания и нарушения в данном изобретении включают заболевания и нарушения, связанные с компонентами ЕСМ (внеклеточного матрикса).

В настоящем документе "лечение" субъекта с заболеванием или состоянием означает, что симптомы субъекта частично или полностью облегчаются или остаются неизменными после лечения. Поэтому лечение включает профилактику, процесс лечения и/или излечение. Профилактика относится к предотвращению возможного заболеваний и/или предотвращению ухудшения симптомов или прогрессирования заболевания. Лечение также включает любое фармацевтическое применение предусмотренных здесь композиций.

В настоящем документе "фармацевтически эффективный агент" включает любое терапевтическое средство или биологически активное вещество, включая, но не ограничиваясь, например, анестетиками, вазоконстрикторами, диспергирующими агентами, обычными терапевтическими препаратами, включая низкомолекулярные препараты, например, бисфосфонаты, и терапевтические белки, например, инсулин, молекулы IgG и другие антитела.

В настоящем документе "лечение" представляет собой любой способ уменьшения или иного благотворного изменения симптомов состояния, расстройства или заболевания.

В настоящем документе "терапевтический эффект" представляет собой эффект лечения субъекта, который заключается в изменении, как правило, улучшении или смягчении симптомов заболевания или состояния, или заключается в излечении заболевания или состояния. Терапевтически эффективное количество относится к количеству композиции, молекулы или соединения, которое приводит к терапевтическому эффекту после введения субъекту.

Используемый здесь термин "субъект" относится к животному, в том числе млекопитающему, такому как человек.

В настоящем документе термин "пациент" относится к человеческому субъекту, проявляющему симптомы заболевания или расстройства.

В настоящем документе "улучшение симптомов заболевания или расстройства" посредством лечения, например, фармацевтической композицией или лекарственным средством, относится к любому уменьшению симптомов, постоянному или временному, устойчивому или кратковременному, связанному с введением или приписываемому введению композиции или лекарственного средства.

В настоящем документе "профилактика" или "предотвращение" относится к способам уменьшения риска развития заболевания или состояния.

В настоящем документе "терапевтически эффективное количество соединения или композиции" представляет собой количество, которое является достаточным для проявления терапевтического эффекта. Указанное количество необходимо для предотвращения, лечения, смягчения, устранения или частичного устранения симптомов заболевания или нарушения.

В настоящем документе "единичная дозированная форма" относится к физически дискретным единицам, пригодным для человека и животных, содержащимся в индивидуальной упаковке, как известно в уровне техники.

В настоящем документе "единичная дозированная композиция" относится к композиции для непосредственного введения.

В настоящем документе "изделие" представляет собой продукт, который изготавливается и продается. В настоящем документе термин охватывает терапевтический агент, используемый совместно с PH20, таким как esPH20, или esPH20 отдельно, содержащиеся в одной или отдельных упаковках.

В настоящем документе "жидкая композиция" относится к любой композиции, которая может течь. Таким образом, жидкие композиции включают композиции в полутвердой форме, пасты, растворы, водные смеси, гели, лосьоны, кремы и другие подобные композиции.

В настоящем документе "набор" относится к комбинации предусмотренных в данном изобретении композиций и другого объекта, предназначенного, например, для восстановления и активации, относится к комбинации предусмотренных в данном изобретении композиций и приборов/устройств для доставки, введения, диагностики и оценки биологической активности или свойства. Наборы необязательно включают инструкции по использованию.

В настоящем документе "клеточный экстракт" или "лизат" относится к смеси или фракции, которая состоит из лизированных или разрушенных клеток.

В настоящем документе "животное" включает любое животное, включая, но не ограничиваясь приматами, например, человеком, гориллой и низшими приматами, грызунами, такими как мыши и крысы, птицами, такими как куры, жвачными животными, например, козами, коровами, оленями, овцами, свиньями, и другими животными. Термин "животные, не представляющие собой человека", исключает человека из круга предусмотренных животных. Ферменты, предусмотренные здесь, представляют собой ферменты из любого источника, включая животных, растения, прокариоты и грибы. Большая часть ферментов представляют собой ферменты животного происхождения, в том числе ферменты млекопитающих.

В настоящем документе "контроль" относится к образцу, который в значительной мере идентичен исследуемому образцу, за исключением того, что он не обладает в какой-то мере исследуемым параметром, или, если речь идет об образце плазмы, контроль может быть взят у нормального добровольца, не затронутого интересующим состоянием. Контроль также может представлять собой внутренний контроль.



В настоящем документе упоминание понятий в единственном числе также включает множественное число, если контекст с очевидностью не указывает на иное. Таким образом, например, упоминание молекулы, включающей "внеклеточный домен" относится к молекулам с одним или несколькими внеклеточными доменами.

В настоящем документе диапазоны и количества могут быть обозначены как конкретные значения с добавлением термина "приблизительно". Термин приблизительно также включает в себя точное значение. Следовательно, "приблизительно 5 оснований" означает "приблизительно 5 оснований", а также "5 оснований".

В настоящем документе термины "по желанию" или "необязательно" означают, что описанные явления или обстоятельства могут иметь место или могут не иметь места, и что описание включает случаи, когда указанное явление или обстоятельство происходит, и случаи, когда это не так. Например, необязательно замещенная группа означает, что группа не является замещенной или является замещенной.

В настоящем документе аббревиатуры для любых защитных групп, аминокислот и других соединений, если не указано иное, употребляются в соответствии с их обычным использованием и являются признанными аббревиатурами, или употребляются в соответствии с Комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB (см., (1972) *Biochem.* 11: 1726).

## В. Обзор

Гиалуронидазы представляют собой ферменты, которые катализируют гидролиз гиалуроновой кислоты, тем самым снижая вязкость гиалуроновой кислоты и увеличивая проницаемость тканей. РН20 является активной в нейтральной среде и активной в кислой среде гиалуронидазой, демонстрирующей оптимальную активность при гликозилировании. Человеческая РН20 является белком с GPI-якорем, который присоединяется к внеклеточной поверхности плазматической мембраны через гликозилфосфатидилинозитольный (GPI) якорь на С-конце белка. Присоединение GPI-якоря ко всем белкам с GPI-якорем происходит после расщепления полипептидной цепи по определенной аминокислотной позиции, называемой  $\omega$ -сайтом (как правило, сайт расположен приблизительно в 20-30 аминокислотах от С-конца) и удаления С-концевой части белка в ЭР. Указанная удаляемая С-концевая часть представляет собой сигнальную последовательность присоединения GPI-якоря. Сигнальная последовательность присоединения GPI-

якоря человеческого PH20 соответствует положениям 491-509 аминокислотной последовательности полипептида-предшественника, приведенного в SEQ ID NO: 107,  $\omega$ -сайт находится в положении 490. Полипептиды PH20 с GPI-якорем, такие как человеческая PH20, являются связанными с мембраной белками и, следовательно, не являются растворимыми. Нерастворимые формы PH20, как правило, не подходят для применения в терапевтических целях.

Полипептиды PH20 без GPI-якоря обычно секретируются клетками при экспрессии, поскольку они не содержат сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря, которая закрепляет полипептид на мембране. Авторы изобретения обнаружили, что растворимые формы PH20 также включают белки, которые содержат аминокислотные остатки из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря. Длинные растворимые полипептиды PH20 (esPH20) представляют собой растворимые белки PH20, укороченные с С-конца, но сохраняющие один или более аминокислотных остатков, расположенных в сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря соответствующего полипептида PH20 дикого типа. Такие полипептиды esPH20 растворимы и могут быть использованы в качестве терапевтических полипептидов, например, для лечения связанных с гиалуроновой кислотой заболеваний или состояний, и/или могут быть использованы в качестве диспергирующего агента или агента для распространения с целью усиления, улучшения или увеличения распространения и доставки других агентов, лекарств и белков, улучшая таким образом фармакокинетический и фармакодинамический профиль совместно вводимого агента, лекарственного средства или белка.

## 1. PH20

PH20, также известный как поверхностный белок сперматозоидов, молекула адгезии сперматозоидов 1, SPAM1 или HYAL3, представляет собой гиалуронидазу. Гиалуронидазы представляют собой семейство ферментов, которые разрушают гиалуроновую кислоту (также известную как гиалуронан, гиалуронат или ГК), являющуюся одним из важнейших компонентов внеклеточного матрикса и основным составляющим интерстициального барьера. Катализируя гидролиз гиалуроновой кислоты, гиалуронидазы снижают вязкость гиалуроновой кислоты, тем самым повышая проницаемость тканей. Вследствие этого гиалуронидазы применяли, например, в качестве агентов для распространения или диспергирующих агентов в сочетании с другими агентами, лекарствами и белками для усиления их

распространения и доставки, а также для улучшения фармакокинетического и фармакодинамического профиля совместно вводимого агента, лекарства или белка.

PH20, как и другие гиалуронидазы млекопитающих, представляет собой эндо- $\beta$ -N-ацетилгексозаминидазу, которая гидролизует  $\beta 1 \rightarrow 4$  гликозидные связи гиалуроновой кислоты в олигосахаридах различной длины, таких как тетрасахариды и гексасахариды. PH20 обладает гидролитической и трансгликозидазной активностями и может разрушать гиалуроновую кислоту и хондроитин сульфаты, такие как C4-S и C6-S. В организме PH20 участвует в адгезии сперматозоида к яйцеклетке и посредством расщепления гиалуроновой кислоты способствует проникновению сперматозоидов сквозь слой кумулюсных клеток. PH20 находится на поверхности сперматозоидов и в акросоме лизосомального происхождения, где белок присоединен к внутренней акросомной мембране. PH20 плазматической мембраны проявляет гиалуронидазную активность только при нейтральном pH, в то время как PH20 внутренней акросомной мембраны проявляет активность при нейтральном и кислом pH. В дополнение к тому, что PH20 является гиалуронидазой, белок также представляет собой рецептор для ГК-индуцированной клеточной сигнализации, а также рецептор для зоны pellucida, окружающей ооцит.

Примеры PH20 белков включают, но не ограничиваются PH20 человека (полипептид-предшественник приведен в SEQ ID NO: 107, зрелый полипептид приведен в SEQ ID NO: 108), бычьим PH20 (SEQ ID NOS: 111 и 119), кроличьим (SEQ ID NO: 112), овечьим PH20 (SEQ ID NOS: 113, 118 и 120), PH20 обезьяны циномолгус (SEQ ID NO: 114), PH20 морской свинки (SEQ ID NO: 115), крысы (SEQ ID NO: 116), мыши (SEQ ID NO: 117), шимпанзе (SEQ ID NO: 197) и макаки резус (SEQ ID NO: 198). мРНК транскрипт PH20 человека, как правило, транслируется с образованием белка-предшественника из 509 аминокислот (SEQ ID NO: 107), содержащим сигнальную последовательность из 35 аминокислот на N-конце (аминокислотные остатки 1-35 из SEQ ID NO: 107). Таким образом, после транспорта в ЭР и удаления сигнального пептида образуется зрелый полипептид из 474 аминокислот с аминокислотной последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 108. Затем, как описано ниже, в ЭР отщепляется C-концевой пептид, что облегчает ковалентное присоединение GPI-якоря к новообразованной C-концевой аминокислоте в положении, соответствующем позиции 490 аминокислотной последовательности полипептида-предшественника, приведенного в SEQ ID NO: 107.

PH20 человека является прототипом активной в нейтральной среде гиалуронидазы, которая, как правило, связана с мембраной через гликозилфосфатидилинозитольный (GPI) якорь. Как отмечалось выше, PH20 также экспрессируется на внутренней поверхности акросомной мембраны, где она проявляет гиалуронидазную активность при нейтральном и кислом pH. Опыт показывает, что район 1 пептида PH20, который соответствует аминокислотам 142-172 последовательности полипептида-предшественника, приведенного в SEQ ID NO: 107, требуется для активности фермента при нейтральном pH. Район 3 пептида, который соответствует аминокислотам 277-297 последовательности полипептида-предшественника, приведенного в SEQ ID NO: 107, как представляется, важен для активности фермента при кислом pH (Chert и др., (2001) *Matrix Biology* 20:515-525). Таким образом, создается впечатление, что PH20 содержит два каталитических центра. В дополнение к каталитическим центрам PH20 также содержит гиалуронан-связывающий участок. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что этот участок находится в районе 2 пептида, который соответствует аминокислотным позициям 205-235 аминокислотной последовательности полипептида-предшественника, приведенного в SEQ ID NO: 107. Указанный район является высококонсервативным среди гиалуронидаз и похожим на связывающий гепарин мотив.

#### **а. Гликозилирование**

Гликозилирование, в том числе N- и O-гликозилирование некоторых деградирующих гиалуронан ферментов, в том числе гиалуронидаз, может иметь большое значение для их каталитической активности и стабильности. N-связанные олигосахариды делятся на несколько основных типов (олигоманнозы, сложные и гибридные), все указанные типы включают (Man)<sub>3</sub>-GlcNAc-GlcNAc-ядро, связанное через амидный азот остатка Asn, который входит в последовательность -Asn-Xaa-Thr/Ser (где Xaa не является Pro). Для белка коагуляции С сообщалось о наличии дополнительного сайта гликозилирования -Asn-Xaa-Cys-. В некоторых случаях деградирующий гиалуронан фермент, такой как гиалуронидаза, может быть N- и O-гликозилирован. Например, PH20 имеет один O-связанный олигосахарид в положении T475 и шесть N-связанных олигосахаридов в положениях N82, N166, N235, N254, N368, N393 последовательности человеческой PH20, приведенной в SEQ ID NO: 107. Аминокислотные остатки N82, N166 и N254 заняты гликанами сложного типа, в то время как аминокислотные остатки N368 и N393 заняты богатыми маннозой гликанами (см., Пример 6 ниже). Аминокислотный остаток N235

приблизительно в 80% случаев занят богатыми маннозой гликанами, а в 20% случаев – сложными гликанами.

Хотя изменение типа гликана при модифицировании гликопротеина может драматически повлиять на антигенность белка, его структурный фолдинг, растворимость и стабильность, считается, что большинство ферментов не требуют гликозилирования для оптимальной ферментативной активности. Для некоторых гиалуронидаз удаление N-гликозилирования может привести к практически полной инактивации. Таким образом, для таких гиалуронидаз наличие N-гликанов необходимо для получения активного фермента. Наличие N-гликанов в полипептиде PH20 необходимо для получения активного фермента. Например, авторами изобретения установлено, что полное дегликозилирование человеческого PH20 путем обработки эндогликозидазой ПНГазойF или ингибитором GlcNAc-фосфотрансферазы (GPT) туникамицином приводит к полной потере гиалуронидазной активности (см., Примеры 7-8 ниже). В отличие от этого, частичное дегликозилирование человеческой PH20 обработкой эндогликозидазой EndoF1, EndoF2, EndoF3 или EndoH не влияет на активность человеческой гиалуронидазы PH20 (см., Пример 7 ниже).

## **b. GPI-якорь**

Человеческий PH20 представляет собой белок с GPI-якорем. Таким образом, полипептид PH20 крепится к внеклеточной поверхности плазматической мембраны через гликозилфосфатидилинозитольный (GPI) якорь, прикрепленный к С-концу белка. Белки с GPI-якорем, такие как человеческий PH20, транслируются с отщепляемым N-концевым сигнальным пептидом, который направляет белок в эндоплазматический ретикулум (ЭР). На С-конце указанных белков присутствует другая сигнальная последовательность, которая направляет присоединение к полипептиду предварительно образованного GPI-якоря в просвете ЭР. Присоединение GPI-якоря происходит после расщепления С-концевой части полипептидной цепи по определенной аминокислотной позиции, называемой  $\omega$ -сайтом (как правило, сайт расположен приблизительно в 20-30 аминокислотах от С-конца). Несмотря на то, что, как представляется, не существует консенсусной последовательности для идентификации расположения  $\omega$ -сайта, белки с GPI-якорем содержат С-концевую сигнальную последовательность или домен присоединения GPI-якоря, который, как правило, содержит преимущественно гидрофобную область из 8-20 аминокислот, которой предшествует гидрофильный спейсерный район из 8-12 аминокислот, расположенный непосредственно после  $\omega$ -сайта. Указанный

гидрофильный спейсерный район часто богат заряженными аминокислотами и пролином (White и др., (2000) *J. Cell Sci.* 113 (часть 4): 721-727). Более детальный анализ показывает, что существует область приблизительно из 11 аминокислот, предшествующая  $\omega$ -1 позиции, которая характеризуется низким уровнем предсказанной вторичной структуры, область вокруг сайта расщепления ( $\omega$ -сайт) от  $\omega$ -1 до  $\omega$ +2, которая характеризуется наличием остатков с небольшими боковыми цепями, спейсерная область между позициями  $\omega$  +3 и  $\omega$ +9 и гидрофобный хвост от  $\omega$ +10 до С-конца (Pierleoni и др., (2008) *BMC Bioinformatics* 9:392).

Хотя не существует консенсусной сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря, было разработано множество различных *in silico* методов и алгоритмов, которые могут быть использованы для определения таких последовательностей в полипептидах (см., например, Udenfriend и др., (1995) *Methods Enzymol.* 250:571-582; Eisenhaber и др., (1999) *J. Biol. Chem.* 274: 741-758; Kronegg и Buloz (1999), "Detection/prediction of GPI cleavage site (GPI-anchor) in a protein (DGPI)," 129.194.185.165/dgpi/; Fankhauser и др., (2005) *Bioinformatics* 21:1846-1852; Omaetxebarria и др., (2007) *Proteomics* 7:1951-1960; Pierleoni и др., (2008) *BMC Bioinformatics* 9:392), включая методы, доступные на биоинформатических веб-сайтах, таких как вебсайт ExPASy Proteomics tools (вебсайт [expasy.ch/tools/](http://expasy.ch/tools/)). Таким образом, специалист в данной области может определить, содержит ли полипептид PH20 сигнальную последовательность присоединения GPI-якоря, и, следовательно, является ли полипептид PH20 белком с GPI-якорем.

Сигнальная последовательность присоединения GPI-якоря человеческого PH20 занимает позиции 491-509 в аминокислотной последовательности полипептида-предшественника, приведенного в SEQ ID NO: 107,  $\omega$ -сайт находится в положении 490. Таким образом, у человеческой PH20 после переноса в ЭР отщепляются аминокислоты 491-509, и GPI-якорь ковалентно присоединяется к остатку серина в положении 490. Ковалентное присоединение GPI-якоря к С-концу PH20 человека и, следовательно, мембраносвязанный характер PH20, были подтверждены с помощью исследований с фосфатидилинозитол-специфическим гидролизом фосфолипазой C (PI-PLC) (см., например, Lin и др., (1994) *J. Biol. Chem.* 269:1157-1163 и Пример 3 ниже). Специфичные к фосфатидилинозитолу фосфолипазы C (PI-PLC) и D (PI-PLD) гидролизуют GPI-якорь, освобождая полипептид PH20 от клеточной мембраны. Следовательно, полученный освобожденный полипептид PH20 является растворимым. Растворимый PH20 может

быть обнаружен и отделен от нерастворимого, мембраносвязанного PH20 хорошо известными в данной области методами, включая, но не ограничиваясь тестом с Тритон® X-114, как описано ниже и в Примере 4. В указанном анализе растворимая гиалуронидаза PH20 переходит в водную фазу нагретого до 37°C раствора Тритон® X-114 (Bordier и др., (1981) *J. Biol. Chem.*, 256:1604-7), тогда как заякоренная в мембране гиалуронидаза PH20 переходит в богатую детергентом фазу. Таким образом, для определения, является ли полипептид PH20 *in vivo* GPI-заякоренным, в дополнение к использованию алгоритмов также могут быть выполнены тесты на растворимость.

### **с. Длинные растворимые полипептиды PH20**

Изобретение включает длинные растворимые полипептиды PH20 (esPH20) и их композиции. Примерами предусмотренных в данном изобретении полипептидов esPH20 являются полипептиды esPH20 приматов, включая, но не ограничиваясь, полипептидами esPH20 человека и шимпанзе. Предусмотренные в данном изобретении полипептиды esPH20 являются растворимыми, т.е. секретлируемыми, белками PH20, укороченными на С-конце, но сохраняющими, по меньшей мере, один или более аминокислотных остатков из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря соответствующего полипептида PH20 дикого типа (например, укороченными по положениям аминокислотной последовательности 491-500). Полипептиды esPH20 могут быть получены из любого GPI-заякоренного полипептида PH20 модификацией GPI-заякоренного полипептида PH20, то есть удалением части сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря, при условии, что полученный полипептид esPH20 растворим. Растворимость или секрецию в культуральную среду можно определить с помощью SDS-PAGE и анализа методом Вестерн-блоттинг после экспрессии или, альтернативно, с помощью теста с Тритон® X-114, как описано ниже и в Примере 4, при этом полипептид PH20 получают любым способом, известным специалисту в данной области, в том числе рекомбинантной экспрессией и синтетически. Предусмотренные в данном изобретении полипептиды esPH20 могут быть использованы, например, в качестве терапевтических полипептидов, в качестве агентов для распространения или диспергирующих агентов в сочетании с другими препаратами, лекарствами и белками для улучшения их диспергирования и доставки, а также для улучшения фармакокинетического и фармакодинамического профиля совместно вводимых агентов, лекарственных средств или белков.

Предусмотренные в данном изобретении полипептиды esPH20 содержат 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или более аминокислотных остатков из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря, что обеспечивает растворимость полипептида esPH20, то есть полипептид переходит в водную фазу раствора Тритон® X-114, как описано ниже. Длинные растворимые полипептиды PH20 по настоящему документу могут быть получены укорочением С-конца любого природного GPI-заякоренного полипептида PH20, где полученный полипептид esPH20 является растворимым и содержит 1 или более аминокислотных остатков из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря. Специалист в данной области с применением хорошо известных в уровне техники методов легко может определить, является ли полипептид PH20 GPI-заякоренным. Такие методы включают, но не ограничиваются использованием известных алгоритмов для предсказания наличия и расположения сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря и  $\omega$ -сайта, а также тестом на растворимость до и после фосфатидилинозитол-специфического расщепления фосфолипазой C (PI-PLC) или D (PI-PLD).

Примеры полипептидов esPH20 включают, но не ограничиваются полипептидами esPH20 приматов, такими как, например, полипептиды esPH20 человека и шимпанзе. Например, предусмотренные в данном изобретении полипептиды esPH20 могут быть получены усечением С-конца любого зрелого полипептида или полипептида-предшественника, приведенного в SEQ ID NO: 107, 108 или 197, а также усечением их аллельных или других вариантов, в том числе их активных фрагментов, при условии, что полученный полипептид растворим и сохраняет один или более аминокислотных остатков из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря. Аллельные варианты и другие варианты известны специалистам в данной области и включают полипептиды с 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% или большей идентичностью последовательности с любой из последовательностей SEQ ID NO: 107, 108 и 197. Полипептиды esPH20 по настоящему документу могут быть укорочены с С-конца на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более аминокислот по сравнению с полипептидом дикого типа, таким как полипептид с последовательностью SEQ ID NO: 107, 108 и 197, при условии, что полученный полипептид esPH20 растворим и сохраняет один или более аминокислотных остатков из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря.

Длинные растворимые полипептиды PH20 по настоящему документу сохраняют гиалуронидазную активность. Кроме того, полипептиды esPH20 являются



активными в нейтральной среде, то есть они сохраняют гиалуронидазную активность при нейтральном pH. Гиалуронидазная активность может быть увеличена или уменьшена по сравнению с GPI-заякоренной формой PH20 дикого типа. Например, предусмотренные в данном изобретении полипептиды esPH20 могут проявлять гиалуронидазную активность, которая составляет 1%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000% и более от гиалуронидазной активности, проявляемой GPI-заякоренной формой PH20 дикого типа.

### **1. Полипептиды esPH20 человека**

Примерами предусмотренных в данном изобретении полипептидов esPH20 являются человеческие полипептиды esPH20. Человеческие полипептиды esPH20 по настоящему документу растворимы и содержат 1 или более аминокислотных остатков из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря. Таким образом, в данном изобретении предусмотрены растворимые формы человеческой PH20, в которых не полностью отсутствует сигнальная последовательность присоединения GPI-якоря.

Полипептиды-предшественники esPH20 человека по настоящему документу включают, но не ограничиваются полипептидами с укороченным С-концом с последовательностью, соответствующей последовательности от 1 до 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 или 500 аминокислоты из последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 107. При экспрессии в клетках млекопитающих во время процессинга у белка отщепляется N-концевая сигнальная последовательность из 35 аминокислот, и секретируется зрелая форма белка. Таким образом, зрелые человеческие полипептиды esPH20 содержат аминокислоты от 36 до 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 или 500 из SEQ ID NO: 107. Таким образом, зрелые человеческие полипептиды esPH20 по настоящему документу включают полипептиды, приведенные в SEQ ID NO: 59-63 и 100-104, или их аллельные или другие варианты.

Предусмотренные в данном изобретении человеческие полипептиды esPH20 могут быть экспрессированы в клетках CHO или, альтернативно, могут быть получены в любых клетках или каким-либо способом, известным специалисту в данной области, при условии, что полипептиды растворимы и содержат, по меньшей мере, одну аминокислоту из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря. Получаемые в клетках CHO растворимые человеческие полипептиды esPH20

представляют собой полипептиды, секретируемые в культуральную среду. Специалисту в данной области очевидно, что если секретируемый esPH20 растворим, то есть переходит в водную фазу раствора Тритон® X-114, как описано ниже, то человеческий esPH20 может частично секретироваться, то есть экспрессированный полипептид может секретироваться в культуральную среду на 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91 %, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более. Человеческие полипептиды esPH20 по настоящему документу, содержащие аминокислоты 1-500 или 36-500, частично секретируются. Кроме того, при экспрессии в клетках СНО полипептиды-предшественники человеческого esPH20, содержащие аминокислоты с 1 по 498, 499 или 500, или зрелые человеческие полипептиды esPH20, содержащие аминокислоты с 36 до 498, 499 или 500, экспрессируются слабо (см., Пример 3 ниже).

Таким образом, примеры полипептидов-предшественников человеческой esPH20 включают, но не ограничиваются любыми укороченными с С-конца полипептидами с последовательностью от 1 до 491, 492, 493, 494, 495, 496 или 497 аминокислоты из последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 107. При экспрессии в клетках млекопитающих после отщепления у белка во время процессинга N-концевой сигнальной последовательности, зрелые человеческие полипептиды esPH20 содержат аминокислотные последовательности, соответствующие аминокислотам от 36 до 491, 492, 493, 494, 495, 496 или 497 из SEQ ID NO: 107. Таким образом, примеры зрелых человеческих полипептидов esPH20 по настоящему документу включают полипептиды, содержащие 456, 457, 458, 459, 460, 461 или 462 аминокислот в длину, такие как полипептиды в любой из SEQ ID NO: 60-63 и 102-104, или их аллельные или иные варианты. Аллельные варианты и другие варианты, как известно специалистам в данной области, включают полипептиды с 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% или большей идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 107 или 108.

Также в данном изобретении предусмотрены человеческие полипептиды esPH20 с аминокислотными заменами. Полипептиды esPH20 с аминокислотными заменами представляют собой человеческие полипептиды esPH20, модифицированные аминокислотными заменами по сравнению с человеческими полипептидами esPH20, предусмотренными в данном изобретении и приведенными, например, в SEQ ID NO: 60-63 и 102-104. Таким образом, человеческие полипептиды esPH20 с аминокислотными заменами представляют собой укороченные с С-конца полипептиды. В некоторых примерах последовательности человеческих

полипептидов esPH20 с аминокислотными заменами по настоящему документу, по меньшей мере, на 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92 %, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичны аминокислотным последовательностям с 1 до 491, 492, 493, 494, 495, 496 или 497 аминокислоты или последовательностям с 36 до 491, 492, 493, 494, 495, 496 или 497 аминокислоты из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 107. В других примерах последовательности человеческих полипептидов esPH20 с аминокислотными заменами на 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более идентичны последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 60-63 и 102-104.

Предусмотренные в данном изобретении человеческие полипептиды esPH20 могут проявлять увеличенную или уменьшенную по сравнению с PH20 с GPI-якорем дикого типа гиалуронидазную активность. Например, предусмотренные в данном изобретении человеческие полипептиды esPH20 могут проявлять гиалуронидазную активность, которая составляет 1%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000% и более от гиалуронидазной активности формы дикого типа с GPI-якорем. В некоторых примерах человеческие полипептиды esPH20 обладают повышенной гиалуронидазной активностью по сравнению с формой дикого типа с GPI-якорем. Гиалуронидазная активность человеческих полипептидов esPH20 может быть увеличена на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000% и более по сравнению с гиалуронидазной активностью формы дикого типа с GPI-якорем.

Предусмотренные в данном изобретении человеческие полипептиды esPH20 проявляют гиалуронидазную активность в нейтральной среде или гиалуронидазную активность, измеряемую при нейтральном pH, увеличенную или уменьшенную по сравнению с PH20 с GPI-якорем дикого типа. Например, предусмотренные в данном изобретении человеческие полипептиды esPH20 могут проявлять гиалуронидазную активность, которая составляет 1%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000% и более от гиалуронидазной активности формы дикого типа с GPI-якорем. В некоторых примерах человеческие полипептиды esPH20 обладают пониженной гиалуронидазной активностью в нейтральной среде по сравнению с формой дикого типа с GPI-якорем. Гиалуронидазная активность в нейтральной среде может быть снижена на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%,

95% и более по сравнению с гиалуронидазной активностью формы дикого типа с GPI-якорем в нейтральной среде. В других примерах человеческие полипептиды esPH20 обладают повышенной гиалуронидазной активностью в нейтральной среде по сравнению с формой дикого типа с GPI-якорем. Гиалуронидазная активность в нейтральной среде может быть увеличена на 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000% и более по сравнению с гиалуронидазной активностью формы дикого типа с GPI-якорем в нейтральной среде.

Как правило, для сохранения активности полипептида человеческие полипептиды esPH20 получают с помощью систем экспрессии белков, которые обеспечивают правильное N-гликозилирование, так как гликозилирование является важным для каталитической активности и стабильности этих полипептидов. Примеры полезных для рекомбинантной экспрессии полипептидов esPH20 клеток включают, например, клетки яичников китайского хомячка (CHO) (например, клетки DG44 CHO или клетки CHO-S).

## **2. Полипептиды esPH20 других видов**

Изобретение включает длинные растворимые полипептиды PH20 не человеческого происхождения. Для определения позиций, соответствующих позициям 491-500 человеческого полипептида PH20, приведенного в SEQ ID NO: 107, специалист в данной области техники может произвести выравнивание аминокислотной последовательности человеческого PH20 с последовательностью любого полипептида PH20 не человеческого происхождения, у которого для получения длинного растворимого полипептида PH20 может быть укорочен С-конец. Кроме того, для прогнозирования расположения в полипептиде сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря могут быть использованы, например, описанные в данном изобретении алгоритмы. Чтобы определить, являются ли полученные укороченные с С-конца полипептиды растворимыми, и, следовательно, представляют ли собой полипептиды esPH20, с помощью хорошо известных в уровне техники методов, включая анализы с Тритон® X-114, описанные ниже и в Примере 4, можно оценить растворимость укороченных с С-конца полипептидов.

Изобретение включает длинные растворимые полипептиды PH20 приматов, где приматы не включают человека. Примеры полипептидов PH20 с GPI-якорем приматов включают, но не ограничиваются, PH20 шимпанзе (SEQ ID NO: 197). Таким образом, в данном изобретении предусмотрены полипептиды esPH20

шимпанзе. Предусмотренные в данном изобретении полипептиды esPH20 шимпанзе укорочены с С-конца, как описано выше для укороченных с С-конца человеческих полипептидов esPH20. Таким образом, аминокислотные последовательности предусмотренных в данном изобретении полипептидов esPH20 шимпанзе соответствуют аминокислотным остаткам с 1 до 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500 или 501 последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 107.

Полипептиды PH20 шимпанзе могут быть выровнены с человеческими полипептидами PH20 любым способом, известным специалисту в данной области. При выравнивании обычно достигается максимальное число совпадений, и способы выравнивания включают ручное выравнивание, выравнивание с помощью многочисленных доступных программ (например, BLASTP) и другие известные специалистам в данной области способы. На Фигуре 1 представлен результат выравнивания полипептидов-предшественников PH20 человека и шимпанзе. Аминокислотные остатки с 491 до 500 человеческой PH20 (где человеческие полипептиды esPH20 по настоящему документу укорочены по сравнению с человеческим полипептидом PH20 дикого типа) соответствуют аминокислотным остаткам с 491 до 501 PH20 шимпанзе. Таким образом, в данном изобретении предусмотрены полипептиды esPH20 шимпанзе, содержащие аминокислотные остатки с 1 до 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500 или 501 из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 197. При экспрессии в системах экспрессии млекопитающих во время процессинга отщепляется сигнальный пептид из 35 аминокислот, и секретируется зрелая форма белка. Таким образом, зрелые полипептиды esPH20 шимпанзе содержат аминокислоты с 36 до 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500 или 501 из SEQ ID NO: 197.

Примеры полипептидов esPH20 шимпанзе включают полипептиды, которые содержат аминокислотные остатки с 1 до 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497 или 498 из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 197. При экспрессии в системах экспрессии млекопитающих во время процессинга отщепляется сигнальный пептид из 35 аминокислот, и секретируется зрелая форма белка. Таким образом, зрелые полипептиды esPH20 шимпанзе содержат аминокислоты с 36 до 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497 или 498 из SEQ ID NO: 197.

#### **D. Частично N-гликозилированные полипептиды PH20**

Изобретение включает частично N-гликозилированные гиалуронидазы, в том числе частично дегликозилированные полипептиды PH20, которые полностью или частично сохраняют гиалуронидазную активность N-гликозилированной гиалуронидазы. Примеры частично дегликозилированных гиалуронидаз включают частично дегликозилированные полипептиды PH20 любых видов, например, полипептиды, приведенные в любой из SEQ ID NO: 107-109, 111-120, 197 и 198, или их аллельные или другие варианты. Аллельные и другие варианты, как известно специалистам в данной области техники, включают полипептиды, обладающие 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% или большей идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 107-109, 111-120, 197 и 198 или их усеченными формами. Частично дегликозилированные гиалуронидазы по настоящему документу также включают гибридные, слитые и химерные частично дегликозилированные гиалуронидазы и конъюгаты частично дегликозилированных гиалуронидаз.

Предусмотренные в данном изобретении частично N-гликозилированные гиалуронидазы могут быть получены с помощью расщепления одной или несколькими гликозидазами. Таким образом, хотя все сайты N-гликозилирования (например, сайты в аминокислотных позициях N82, N166, N235, N254, N368 и N393 PH20 человека, приведенной, например, в SEQ ID NO: 107) могут быть гликозилированы, степень гликозилирования белка будет уменьшена по сравнению с гиалуронидазой, не расщепленной одной или несколькими гликозидазами. Частично дегликозилированные гиалуронидазы по настоящему документу, в том числе частично дегликозилированные растворимые полипептиды PH20, могут обладать 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% гликозилирования полностью гликозилированной гиалуронидазы. В одном из примеров 1, 2, 3, 4, 5 или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107, частично дегликозилированы, так что они больше не содержат богатых маннозой или сложных гликанов, а содержат, по меньшей мере, N-ацетилглюкозаминовые фрагменты. В некоторых примерах 1, 2 или 3 сайта N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166 и N254 из SEQ ID NO: 107, дегликозилированы, то есть не содержат полисахаридного фрагмента. В других примерах 3, 4, 5, или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107,

гликозилированы. Гликозилированные аминокислотные остатки содержат, по меньшей мере, N-ацетилглюкозаминовый фрагмент.

Также в данном изобретении предусмотрены частично N-гликозилированные укороченные с С-конца полипептиды PH20. У частично дегликозилированных укороченных с С-конца полипептидов PH20 по настоящему документу отсутствуют одна или несколько аминокислот из С-конца полноразмерного полипептида PH20, такого как любой из полипептидов, приведенных в SEQ ID NO: 107-109, 111-120, 197 и 198. Таким образом, частично N-гликозилированные укороченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу могут быть укорочены с С-конца на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 или более аминокислот по сравнению с полноразмерным полипептидом дикого типа, например, полноразмерным полипептидом дикого типа с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 107-109, 111-120, 197 и 198. В некоторых примерах в белке гликозилированы 3, 4, 5, или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107. Гликозилированные аминокислотные остатки содержат, по меньшей мере, N-ацетилглюкозаминовый фрагмент. В других примерах 1, 2 или 3 сайта N-гликозилирования, соответствующие аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107, не гликозилированы. В других примерах может быть уменьшена степень гликозилирования, так что частично гликозилированные укороченные с С-конца полипептиды PH20 не содержат богатых маннозой и сложных гликанов, но содержат, по меньшей мере, N-ацетилглюкозаминовый фрагмент, сохраняя при этом гиалуронидазную активность. Таким образом, частично дегликозилированные укороченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу могут быть гликозилированы на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% от уровня гликозилирования полностью гликозилированного укороченного с С-конца полипептида PH20.

Частично дегликозилированные полипептиды PH20 и укороченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу сохраняют гиалуронидазную активность. Кроме того, частично дегликозилированные полипептиды PH20 и укороченные с С-конца полипептиды PH20 активны в нейтральной среде, то есть они сохраняют гиалуронидазную активность при нейтральном pH. Гиалуронидазная активность может быть увеличена или уменьшена по сравнению с гликозилированными полноразмерными или укороченными с С-конца полипептидами PH20. Например, частично дегликозилированные полипептиды

RH20 и укороченные с С-конца полипептиды RH20 по настоящему документу могут проявлять гиалуронидазную активность, которая составляет 1%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000% и более от гиалуронидазной активности гликозилированных полноразмерных и укороченных с С-конца полипептидов RH20.

Таким образом, предусмотренные в данном изобретении полипептиды RH20 могут быть использованы в качестве терапевтических полипептидов, например, для лечения связанных с гиалуроновой кислотой заболеваний или состояний. Частично дегликозилированные полипептиды RH20 и укороченные с С-конца полипептиды RH20 также могут быть использованы, например, для комбинированной терапии.

### **1. Полипептиды RH20**

Примеры частично N-гликозилированных гиалуронидаз по настоящему документу включают частично дегликозилированные полипептиды RH20 любых видов, например, частично дегликозилированные полипептиды, приведенные в любой из SEQ ID NO: 107-109, 111-120, 197 и 198, или их аллельные или другие варианты. Аллельные и другие варианты, как известно специалистам в данной области техники, включают полипептиды, обладающие 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% или большей идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 107-109, 111-120, 197 и 198 или их усеченными формами. В некоторых примерах в полипептидах гликозилированы 3, 4, 5, или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107. В других примерах 1, 2 или 3 сайта N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166 и N254 из SEQ ID NO: 107, не гликозилированы. В некоторых примерах 1, 2, 3, 4, 5, или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107, содержат, по меньшей мере, N-ацетилглюкозаминовый фрагмент.

Частично дегликозилированные гиалуронидазы по настоящему документу могут быть получены расщеплением одной или несколькими гликозидазами. Таким образом, хотя все сайты N-гликозилирования (например, сайты гликозилирования, соответствующие аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 человеческой RH20, приведенной в SEQ ID NO: 107) могут быть гликозилированы, степень их гликозилирования уменьшается по сравнению с не расщепленной одной или несколькими гликозидазами гиалуронидазой. В частности, частично



гликозилированные гиалуронидазы сохраняют в каждом сайте N-гликозилирования, по меньшей мере, N-ацетилглюкозаминовый фрагмент. Частично гликозилированные гиалуронидазы могут быть гликозилированы по 3, 4, 5, или 6 сайтам N-гликозилирования, соответствующим аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107. В некоторых примерах гиалуронидазы дегликозилированы по 1, 2 или 3 сайтам N-гликозилирования, соответствующим аминокислотным остаткам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107. Частично дегликозилированные полипептиды PH20 по настоящему документу могут быть гликозилированы на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% от уровня гликозилирования полностью гликозилированной гиалуронидазы.

Гликозидазы или гликозидгидролазы представляют собой ферменты, которые катализируют гидролиз гликозидной связи с образованием двух меньших молекул углеводов. Как показано на Фигуре 2, к основным видам N-гликанов у позвоночных животных можно отнести богатые маннозой гликаны, гибридные гликаны и сложные гликаны. Существует несколько гликозидаз, которые дегликозилируют белки только частично, например, EndoF1, которая расщепляет богатые маннозой и гибридные гликаны; EndoF2, которая расщепляет биантенные сложные гликаны; EndoF3, которая расщепляет биантенные и более разветвленные сложные гликаны, и EndoH, которая расщепляет богатые маннозой и гибридные гликаны (Фиг. 3). Обработка гиалуронидазы, такой как растворимая гиалуронидаза, такая как растворимая PH20, одной или всеми указанными гликозидазами может привести лишь к частичному дегликозилированию и, следовательно, сохранению гиалуронидазной активности.

Например, обработка rHuPH20 одной или всеми описанными выше гликозидазами приводит к частичному дегликозилированию. Частично дегликозилированные полипептиды rHuPH20 могут проявлять гиалуронидазную активность, которая сопоставима с активностью полностью гликозилированного полипептида (см. Пример 7). Напротив, обработка rHuPH20 (SEQ ID NO: 122) ПНГазой F, гликозидазой, которая расщепляет все N-гликаны (см. Фиг. 3), или обработка ингибитором GlcNAc-фосфотрансферазы (GPT) туникамицином приводит к полному удалению всех N-гликанов и, тем самым, делает PH20 энзиматически неактивной (см. Примеры 7-8 ниже).

Частично дегликозилированная гиалуронидаза по настоящему документу, в том числе частично дегликозилированный растворимый полипептид PH20, может сохранить 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% от уровня

гликозилирования полностью гликозилированного полипептида. Как правило, частично дегликозилированная гиалуронидаза, в том числе частично дегликозилированный растворимый полипептид PH20, проявляет гиалуронидазную активность, которая составляет 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000% и более от гиалуронидазной активности полностью гликозилированного полипептида.

Частично дегликозилированные гиалуронидазы по настоящему документу также включают гибридные, слитые и химерные частично дегликозилированные гиалуронидазы и конъюгаты частично дегликозилированных гиалуронидаз.

## **2. Укороченные с С-конца полипептиды PH20**

Примеры частично N-гликозилированных или частично дегликозилированных полипептидов PH20 по настоящему документу включают укороченные с С-конца полипептиды PH20. В последовательности частично гликозилированных укороченных с С-конца полипептидов PH20 по настоящему документу отсутствуют один или несколько аминокислотных остатков из С-конца полноразмерного полипептида PH20, приведенного в SEQ ID NO: 107-109, 111-120, 197 и 198. Таким образом, частично гликозилированные укороченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу могут быть укорочены с С-конца на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 или более аминокислот по сравнению с полноразмерным полипептидом дикого типа, например, полноразмерным полипептидом дикого типа с последовательностью, приведенной в SEQ ID NO: 107-109, 111-120, 197 и 198. В некоторых примерах в полипептиде гликозилированы 3, 4, 5, или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107. В других примерах 1, 2 или 3 сайта N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166 и N254 из SEQ ID NO: 107, не гликозилированы.

Частично дегликозилированные укороченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу могут быть получены расщеплением одной или несколькими гликозидазами. Хотя все сайты N-гликозилирования (например, сайты гликозилирования, соответствующие аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 человеческой PH20, приведенной в SEQ ID NO: 107) могут быть гликозилированы, степень их гликозилирования уменьшается по сравнению с не расщепленной одной или несколькими гликозидазами гиалуронидазой. Таким образом, частично дегликозилированные полипептиды PH20 по настоящему документу могут быть гликозилированы на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или

80% от уровня гликозилирования полностью гликозилированной гиалуронидазы. В частности, частично N-гликозилированные гиалуронидазы сохраняют в каждом сайте N-гликозилирования, по меньшей мере, N-ацетилглюкозаминовый фрагмент. В некоторых примерах 1, 2, 3, 4, 5 или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107, содержат, по меньшей мере, N-ацетилглюкозаминовый фрагмент. В других примерах 3, 4, 5 или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107, гликозилированы, и уровень гликозилирования в каждом из 3, 4, 5 или 6 сайтов N-гликозилирования соответствует полностью гликозилированной гиалуронидазе. В дополнительных примерах 1, 2 или 3 сайта N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107, полностью дегликозилированы. В этих примерах, как правило, полностью дегликозилированы аминокислоты N82, N166 и N254.

Примеры частично N-гликозилированных укороченных с С-конца полипептидов PH20 включают полипептиды любого видового происхождения, например, любые полипептиды, приведенные в SEQ ID NO: 107-109, 111-120, 197 и 198, или их аллельные и другие варианты. Аллельные и другие варианты, как известно специалистам в данной области техники, включают полипептиды, обладающие 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% или большей идентичностью последовательности с любой из SEQ ID NO: 107-109, 111-120, 197 и 198 или их усеченными формами. Частично N-гликозилированные укороченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу также включают гибридные, слитые и химерные полипептиды PH20 и конъюгаты PH20. Например, частично дегликозилированный укороченный с С-конца полипептид PH20 по настоящему документу может быть конъюгирован с полимером, таким как декстран, полиэтиленгликоль (ПЭГ) (т.е. пегилирован), фрагмент полимера сиаловой кислоты или другие подобные полимеры, например, природные полимеры и полисахариды. В других примерах частично N-гликозилированный укороченный с С-конца полипептид PH20 связан или слит с белковым доменом, таких как домен Fc иммуноглобулина IgG.

Гликозилированные или частично гликозилированные укороченные с С-конца полипептиды по настоящему документу включают полипептиды, укороченные с С-конца на 2 - 44 аминокислоты по сравнению с PH20 дикого типа, приведенным в SEQ ID NO: 107 (полипептид-предшественник) или 108 (зрелый

полипептид), а также их аллельные или видовые варианты. Таким образом, укороченные с С-конца полипептиды PH20 включают любые полипептиды с усеченным С-концом, последовательности которых соответствуют последовательности с 1 аминокислоты до 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506 или 507 аминокислоты из SEQ ID NO: 107, или соответствующим позициям в ее аллельных или видовых вариантах, причем в указанных полипептидах 2, 3, 4, 5, или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107, должны быть гликозилированы. При экспрессии в клетках млекопитающих во время процессинга у белка отщепляется N-концевая сигнальная последовательность из 35 аминокислот, и секретируется зрелая форма белка. Таким образом, в данном изобретении предусмотрены зрелые человеческие укороченные с С-конца полипептиды PH20, последовательности которых соответствуют аминокислотам с 36 до 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506 или 507 из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 107, или соответствующим аминокислотам в ее аллельных или видовых вариантах, причем в указанных полипептидах 3, 4, 5, или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107, должны быть гликозилированы.

В Таблице 2 приведены не ограничивающие примеры укороченных с С-конца полипептидов PH20, которые могут быть гликозилированы или частично дегликозилированы. В Таблице 2 ниже приведена длина (в аминокислотах) полипептидов-предшественников и зрелых полипептидов, а также идентификаторы последовательностей (SEQ ID NO), под которыми приведены примеры аминокислотных последовательностей укороченных с С-конца полипептидов-предшественников и зрелых полипептидов PH20. Полипептид PH20 дикого типа также включен в Таблицу 2 для сравнения.

Таблица 2. Примеры укороченных с С-конца полипептидов PH20

| Полипептид | Предшественник<br>(аминокислот) | Предшественник<br>SEQ ID NO | Зрелый пептид<br>(аминокислот) | Зрелый пептид<br>SEQ ID NO |
|------------|---------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| SPAM1-VASL | 509                             | 1                           | 474                            | 108                        |
| SPAM1-SSVA | 507                             | 3                           | 472                            | 55                         |
| SPAM1-ISSV | 506                             | 45                          | 471                            | 97                         |
| SPAM1-IISS | 505                             | 4                           | 470                            | 56                         |
| SPAM1-LIIS | 504                             | 46                          | 469                            | 98                         |
| SPAM1-FLII | 503                             | 5                           | 468                            | 57                         |
| SPAM1-LFLI | 502                             | 47                          | 467                            | 99                         |
| SPAM1-ILFL | 501                             | 6                           | 466                            | 58                         |
| SPAM1-SILF | 500                             | 48                          | 465                            | 100                        |
| SPAM1-VSIL | 499                             | 7                           | 464                            | 59                         |
| SPAM1-IVSI | 498                             | 49                          | 463                            | 101                        |
| SPAM1-FIVS | 497                             | 8                           | 462                            | 60                         |
| SPAM1-MFIV | 496                             | 50                          | 461                            | 102                        |
| SPAM1-TMFI | 495                             | 9                           | 460                            | 61                         |
| SPAM1-ATMF | 494                             | 51                          | 459                            | 103                        |
| SPAM1-SATM | 493                             | 10                          | 458                            | 62                         |
| SPAM1-LSAT | 492                             | 52                          | 457                            | 104                        |
| SPAM1-TLSA | 491                             | 11                          | 456                            | 63                         |
| SPAM1-PSTL | 489                             | 12                          | 454                            | 64                         |
| SPAM1-STLS | 490                             | 13                          | 455                            | 65                         |
| SPAM1-SPST | 488                             | 53                          | 453                            | 105                        |
| SPAM1-ASPS | 487                             | 14                          | 452                            | 66                         |
| SPAM1-NASP | 486                             | 54                          | 451                            | 106                        |
| SPAM1-YNAS | 485                             | 15                          | 450                            | 67                         |
| SPAM1-FYNA | 484                             | 16                          | 449                            | 68                         |
| SPAM1-IFYN | 483                             | 17                          | 448                            | 69                         |
| SPAM1-QIFY | 482                             | 18                          | 447                            | 70                         |
| SPAM1-PQIF | 481                             | 19                          | 446                            | 71                         |
| SPAM1-EPQI | 480                             | 20                          | 445                            | 72                         |
| SPAM1-EEPQ | 479                             | 21                          | 444                            | 73                         |
| SPAM1-TEEP | 478                             | 22                          | 443                            | 74                         |
| SPAM1-ETEE | 477                             | 23                          | 442                            | 75                         |

|            |     |    |     |    |
|------------|-----|----|-----|----|
| SPAM1-METE | 476 | 24 | 441 | 76 |
| SPAM1-PMET | 475 | 25 | 440 | 77 |
| SPAM1-PPME | 474 | 26 | 439 | 78 |
| SPAM1-KPPM | 473 | 27 | 438 | 79 |
| SPAM1-LKPP | 472 | 28 | 437 | 80 |
| SPAM1-FLKP | 471 | 29 | 436 | 81 |
| SPAM1-AFLK | 470 | 30 | 435 | 82 |
| SPAM1-DAFL | 469 | 31 | 434 | 83 |
| SPAM1-IDAF | 468 | 32 | 433 | 84 |
| SPAM1-CIDA | 467 | 33 | 432 | 85 |
| SPAM1-VCID | 466 | 34 | 431 | 86 |
| SPAM1-GVCI | 465 | 35 | 430 | 87 |
| SPAM1-GDVC | 464 | 36 | 429 | 88 |
| SPAM1-IADG | 462 | 37 | 427 | 89 |
| SPAM1-VCIA | 460 | 38 | 425 | 90 |
| SPAM1-VDVC | 458 | 39 | 423 | 91 |
| SPAM1-DAVD | 456 | 40 | 421 | 92 |
| SPAM1-DTDA | 454 | 41 | 419 | 93 |
| SPAM1-VKDT | 452 | 42 | 417 | 94 |
| SPAM1-ADVK | 450 | 43 | 415 | 95 |

N-гликозилированные и частично дегликозилированные усеченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу включают растворимые полипептиды, то есть полипептиды, которые переходят в водную фазу раствора Тритон® X-114, и нерастворимые полипептиды, то есть полипептиды, которые переходят в богатую детергентом фазу раствора Тритон® X-114. Частично дегликозилированные усеченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу могут быть гликозилированы на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% от уровня гликозилирования полностью гликозилированной гиалуронидазы. Кроме того, частично дегликозилированные усеченные с С-конца полипептиды PH20 могут иметь 1, 2 или 3 сайта N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166 и N254 из SEQ ID NO: 107, которые не гликозилированы. Сайт N-гликозилирования, содержащий, по меньшей мере, N-ацетилглюкозаминовый фрагмент, считается гликозилированным.

В некоторых примерах частично N-гликозилированные укороченные с С-конца полипептиды по настоящему изобретению являются растворимыми, т. е. не содержат GPI-якорь. Наличие GPI-якоря можно установить, например, с помощью анализа с Тритон® X-114 после инкубации с PI-PLC или PI-PLD, как описано ниже и в Примере 4. Например, полипептиды PH20, укороченные с С-конца к 5' концу от аминокислоты, соответствующей аминокислотной позиции 490 полипептида PH20, приведенного в SEQ ID NO: 107, при получении в системе экспрессии млекопитающих обычно растворимы (см. Пример 3). Эти полипептиды растворимы в силу того, что они полностью лишены сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря. В других примерах частично гликозилированные укороченные с С-конца полипептиды по настоящему изобретению при получении в системе экспрессии млекопитающих являются нерастворимыми и связанными с мембраной. Например, полипептиды PH20, укороченные с С-конца к 3' концу от аминокислоты, соответствующей аминокислотной позиции 500 полипептида PH20, приведенного в SEQ ID NO: 107, при получении в системе экспрессии млекопитающих обычно нерастворимы (см. Пример 3). Укороченные с С-конца полипептиды по настоящему документу могут быть частично гликозилированы, то есть в полипептидах 3, 4, 5 или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107, являются гликозилированными.

Растворимые частично гликозилированные усеченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу включают полипептиды, которые являются укороченными, но сохраняют, по меньшей мере, один или более аминокислотных остатков, расположенных в сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря, и полипептиды, в которых полностью отсутствует сигнальная последовательность присоединения GPI-якоря и  $\omega$ -сайт. Таким образом, указанные полипептиды лишены ковалентно присоединяемого в ЭР к С-концу белка GPI-якоря, не связаны с внеклеточной поверхностью плазматической мембраны и являются секретлируемыми. Указанные усеченные с С-конца полипептиды PH20 могут быть частично гликозилированы, например, могут быть гликозилированы 3, 4, 5 или 6 сайтов N-гликозилирования. Примеры растворимых укороченных с С-конца полипептидов PH20 без сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря включают полипептиды любых видов, например, приведенные в любой из SEQ ID NO: 107-109, 111-120, 197 и 198 полипептиды, или их аллельные или другие варианты. Последовательности указанных растворимых частично

гликозилированных усеченных с С-конца полипептидов PH20 соответствуют аминокислотам с 1 до 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 или 500 из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 107. После отщепления N-концевой сигнальной последовательности при экспрессии в клетках млекопитающих последовательности зрелых растворимых частично гликозилированных усеченных с С-конца полипептидов PH20 соответствуют аминокислотам с 36 до 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 или 500 из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 107. В некоторых примерах растворимые полипептиды PH20 с усеченной с С-конца сигнальной последовательностью присоединения GPI-якоря частично гликозилированы и содержат, например, по меньшей мере, остаток N-ацетилглюкозамина в 3, 4, 5 или 6 сайтах N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107. В других примерах растворимые полипептиды PH20 с усеченной с С-конца сигнальной последовательностью присоединения GPI-якоря гликозилированы на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% от уровня гликозилирования полностью гликозилированной гиалуронидазы.

Частично дегликозилированные усеченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу, которые сохраняют, по меньшей мере, одну аминокислоту из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря, представляют собой частично дегликозилированные длинные растворимые полипептиды PH20. В некоторых примерах частично дегликозилированные усеченные с С-конца полипептиды PH20 не гликозилированы по 1, 2 или 3 сайтам N-гликозилирования, соответствующим аминокислотам N82, N166 и N254 из SEQ ID NO: 107. Указанные частично дегликозилированные длинные растворимые полипептиды PH20 включают аминокислоты с 1 до 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 или 500 из последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 107. При экспрессии в клетках млекопитающих во время процессинга отщепляется N-концевая сигнальная последовательность из 35 аминокислот, и секретируется зрелая форма белка. Таким образом, зрелая форма частично дегликозилированного полипептида esPH20 включает аминокислоты с 36 до 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 или 500 из



последовательности аминокислот, приведенной в SEQ ID NO: 107. Зрелые человеческие частично гликозилированные полипептиды esPH20 по настоящему документу включают приведенные в SEQ ID NO: 59-63 и 100-104 полипептиды, содержащие, по меньшей мере, остатки N-ацетилглюкозамина в 3, 4, 5 или 6 сайтах N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107. В некоторых примерах степень гликозилирования уменьшают обработкой эндогликозидазой. Таким образом, частично дегликозилированные укороченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу, содержащие, по меньшей мере, одну аминокислоту из сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря, могут быть гликозилированы на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% от уровня гликозилирования полностью гликозилированной гиалуронидазы.

Также в данном изобретении предусмотрены частично дегликозилированные укороченные с С-конца полипептиды PH20, которые не растворимы, то есть прикреплены к клеточной мембране и поэтому не секретируются в культуральную среду при экспрессии. Не растворимые усеченные с С-конца полипептиды PH20 могут быть частично дегликозилированы, при условии, что они сохраняют гиалуронидазную активность. Примеры частично гликозилированных зрелых укороченных с С-конца полипептидов PH20, которые не являются растворимыми, включают полипептиды с последовательностями, соответствующими аминокислотам с 36 до 501, 502, 503, 504, 505, 506 или 507 из SEQ ID NO: 107. Таким образом, частично гликозилированные укороченные с С-конца нерастворимые полипептиды PH20 по настоящему документу включают полипептиды длиной 466, 467, 468, 469, 470, 471 или 472 аминокислот, например, приведенные в SEQ ID NO: 55 - 58 и 97-99, которые сохраняют, по меньшей мере, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% или 80% от уровня гликозилирования полностью гликозилированной гиалуронидазы. В некоторых примерах в полипептидах гликозилированы 3, 4, 5, или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107. В других примерах 1, 2, 3, 4, 5 или 6 сайтов N-гликозилирования, соответствующих аминокислотам N82, N166, N235, N254, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107, содержат, по меньшей мере, N-ацетилглюкозаминовый фрагмент.

Частично гликозилированные укороченные с С-конца полипептиды по настоящему документу могут проявлять увеличенную или уменьшенную по сравнению с формой PH20 с GPI-якорем дикого типа гиалуронидазную активность.

Кроме того, частично дегликозилированные укороченные с С-конца полипептиды PH20 активны в нейтральной среде, то есть они сохраняют гиалуронидазную активность при нейтральном pH. Например, усеченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу могут проявлять гиалуронидазную активность, которая составляет 1%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000% и более от гиалуронидазной активности, проявляемой формой дикого типа с GPI-якорем. В некоторых примерах частично гликозилированные усеченные с С-конца полипептиды PH20 обладают повышенной гиалуронидазной активностью по сравнению с формой дикого типа с GPI-якорем.

Усеченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу могут быть также N-гликозилированы. N-гликозилированные и частично N-гликозилированные гиалуронидазы по настоящему документу также включают гибридные, слитые и химерные N-гликозилированные и частично дегликозилированные гиалуронидазы, а также конъюгаты N-гликозилированных и частично дегликозилированных гиалуронидаз.

### **3. Дополнительные модификации**

Предусмотренные в данном изобретении полипептиды PH20, в том числе человеческие полипептиды esPH20, N-гликозилированные и частично N-гликозилированные укороченные с С-конца полипептиды PH20, а также частично гликозилированные полипептиды PH20, включают также полипептиды, которые содержат химические или посттрансляционные модификации, и полипептиды, которые не содержат химических или посттрансляционных модификаций. Такие модификации включают, но не ограничиваются пегилированием, сиалированием, альбуминированием, гликозилированием, фарнезилированием, карбоксилированием, гидроксильрованием, фосфорилированием, а также другими известными в уровне техники модификациями полипептидов. Таким образом, предусмотренные в данном изобретении укороченные с С-конца полипептиды PH20, в том числе полипептиды esPH20, могут содержать и другие модификации, затрагивающие или не затрагивающие первичную последовательность полипептида, включая, но не ограничиваясь присоединением углеводного фрагмента, фрагмента полиэтиленгликоля (ПЭГ), сиалильного фрагмента, Fc домена иммуноглобулина G или любого другого домена или фрагмента. Например, такие дополнительные модификации могут быть введены для повышения стабильности или времени

полураспада белка в сыворотке. Укороченные с С-конца полипептиды PH20, в том числе полипептиды esPH20 по настоящему документу, могут быть конъюгированы или слиты с любым фрагментом с использованием любых методов, известных в уровне техники, в том числе химических и рекомбинантных методов.

### **Снижение иммуногенности**

У полипептидов PH20 по настоящему документу, включая человеческие полипептиды esPH20, может быть уменьшена иммуногенность. Снижение иммуногенности может быть достигнуто за счет внесения изменений в последовательность, которые устраняют антигенные эпитопы полипептида, или с помощью посттрансляционных модификаций. Например, предусмотрено изменение гликозилирования пептида, при условии, что полипептид должен содержать, по меньшей мере, остатки N-ацетилглюкозамина в аминокислотных позициях N235, N368 и N393 из SEQ ID NO: 107.

Например, полипептиды PH20 могут быть модифицированы таким образом, чтобы не содержать фукозу, особенно избежать бифукозилирования. В частности, предусмотренные в данном изобретении полипептиды PH20 не бифукозилированы. Это может быть достигнуто путем экспрессии и получения полипептидов PH20 в клетках-хозяевах, как правило, клетках насекомых, в которых не происходит бифукозилирование. Фукоза представляет собой дезоксигексозу, которая присутствует в самых разнообразных организмах, включая млекопитающих, насекомых и растения. Фукозилированные гликаны синтезируются фукозилтрансферазами. См., например, Ma и др., *Glycobiology*, 15(2):158R-184R, (2006); Nakayama и др., *J. Biol. Chem.*, 276:16100-16106 (2001); и Sturla и др., *Glycobiology*, 15(10):924-935 (2005). У человека фукоза часто присутствует на концах модифицированных гликанов, было показано, что наличие связанной  $\alpha$ 1,6-гликозидной связью с N-ацетилглюкозамином фукозы важно для процессинга и распознавания гликопротеинов. У насекомых в ядре структур N-гликанов встречается бифукозилирование с  $\alpha$ 1,6- и  $\alpha$ 1,3-связями. Фукозилирование ядра гликанов в клетках насекомых с  $\alpha$ 1,3-связями порождает углеводные эпитопы, иммуногенные для человека (см., например, Заявка США № 20070067855). Например, полипептиды PH20 по настоящему документу, в том числе полипептиды esPH20, могут быть получены в клетках-хозяевах, которые не способны к бифукозилированию полипептида. Таким образом, хотя для экспрессии полипептидов могут быть использованы способные к бифукозилированию клетки

насекомых или другие клетки, как правило, для получения полипептидов используют клетки млекопитающих, такие как клетки CHO.

В некоторых примерах в клетках насекомых с измененными путями гликозилирования могут быть получены дефукозилированные или фукоза-дефицитные полипептиды RN20, "маммалинизированные" клеточные системы экспрессии насекомых могут быть получены за счет применения бакуловирусных векторов экспрессии, содержащих гены процессинга олигосахаридов эукариот (см., например, Патент США № 6461863). Кроме того, антигенность может быть устранена при экспрессии полипептидов RN20 в клетках насекомых без  $\alpha$ 1,3-фукозилтрансферазы (FT3) (см., например, Заявку США № 20070067855). В других примерах дефукозилированные или фукоза-дефицитные полипептиды RN20 могут быть получены, например, в клеточных линиях, которые производят дефукозилированные белки, в том числе в дефицитных по фукозилированию белков Lec13 CHO клетках (Ripka и др., *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); заявка США № 2003/0157108, а также WO 2004/056312), и нокаутных клеточных линиях, таких как клетки CHO с нокаутом гена альфа-1,6-фукозилтрансферазы, FUT8 (Yamane-Ohnuki и др., *Biotech. Bioeng.* 87:614 (2004)).

### **Конъюгирование с полимерами**

В некоторых примерах полипептиды esRN20 и другие укороченные с С-конца полипептиды RN20, в том числе частично гликозилированные полипептиды RN20, предусмотренные в данном изобретении, конъюгированы с полимерами. Примеры полимеров, с которыми могут быть конъюгированы полипептиды RN20, включают природные и синтетические гомополимеры, такие как полиолы (т.е. поли-ОН), полиамины (то есть поли-NH<sub>2</sub>) и поликарбоновые кислоты (например, поли-COОН), а также гетерополимеры, то есть полимеры, содержащие одну или несколько различных связывающихся групп, например, гидроксильные группы и аминокгруппы. Примеры подходящих полимерных молекул включают полимерные молекулы, выбранные из полиалкиленоксидов (ПАО), таких как полиалкиленгликоли (ПАГ), включая полиэтиленгликоли (ПЭГ), метоксиполиэтиленгликоли (мПЭГ) и полипропиленгликоли, ПЭГ-глицидиловые эфиры (Ерох-ПЭГ), ПЭГ-оксикарбонилимидазол (CDI-ПЭГ), разветвленные полиэтиленгликоли (ПЭГ), поливиниловых спиртов (ПВС), поликарбоксилатов, поливинилпирролидона, поли-D,L-аминокислот, полиэтилен-ко-малеинового ангидрида, полистирол-ко-малеинового ангидрида, декстранов, в том числе карбоксиметилдекстранов,

гепарина, гомологичных альбуминов, целлюлозы, в том числе метилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, этилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, карбоксиэтилцеллюлозы и гидроксипропилцеллюлозы, гидролизатов хитозана, крахмалов, таких как гидроксипропилкрахмал и гидроксипропилкрахмал, гликогена, агароз и их производных, гуаровой камеди, пуллулана, инулина, ксантановой камеди, каррагинана, пектина, гидролизатов альгиновой кислоты и биополимеров.

Как правило, полимеры представляют собой полиалкиленоксиды (ПАО), такие как полиэтиленоксиды, такие как ПЭГ, как правило, мПЭГ, которые по сравнению с полисахаридами, такими как декстран, пуллулан и тому подобное, включают меньше реактивных групп, способных к сшиванию. Как правило, полимеры представляют собой нетоксичные полимерные молекулы, такие как метоксиполиэтиленгликоль (мПЭГ), которые могут быть ковалентно конъюгированы с полипептидами esPH20 и другими укороченными с С-конца полипептидами PH20 (например, к группам на поверхности белка) с использованием относительно простых химических методов.

Подходящие для присоединения к полипептидам esPH20 и другим укороченным с С-конца полипептидам PH20 полимерные молекулы включают, но не ограничиваются полиэтиленгликолем (ПЭГ) и производными ПЭГ, такими как метоксиполиэтиленгликоль (мПЭГ), ПЭГ-глицидиловые эфиры (Ерох-ПЭГ), ПЭГ-оксикарбонилимидазол (CDI-ПЭГ), разветвленные ПЭГ и полиэтиленоксид (ПЭО) (см., например, Roberts и др., *Advanced Drug Delivery Review* 2002, 54: 459-476; Harris и Zalipsky "Poly(ethylene glycol), Chemistry and Biological Applications" ACS Symposium Series 680, 1997; Mehvar и др., *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 3(1):125-136, 2000; Harris и Chess (2003) *Nat Rev Drug Discov.* 2(3):214-21; Tsubery, *J Biol. Chem* 279(37): 38118-24, 2004). Молекулярная масса полимерных молекул обычно лежит в пределах приблизительно от 3 кДа до 60 кДа. В некоторых вариантах полимерные молекулы, конъюгированные с полипептидом PH20 по настоящему документу, имеют молекулярную массу 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 или более 60 кДа.

В уровне техники известны различные методы модификации полипептидов ковалентным присоединением (конъюгированием) ПЭГ или производных ПЭГ (т.е. "пегилирования") (см., например, U.S. 2006/0104968; U.S. 5,672,662; U.S. 6,737,505 и U.S. 2004/0235734). Методы пегилирования включают, но не ограничиваются использованием специализированных линкеров и конъюгирующих химических методов (см., например, Harris, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54: 459-476, 2002),

присоединением нескольких фрагментов ПЭГ к одному сайту конъюгирования (например, через использование разветвленных ПЭГ; см., например, Veronese и др., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12:177-180, 2002), сайт-специфическим пегилированием и/или монопегилированием (см., например, Chapman и др., *Nature Biotech.* 17:780-783, 1999) и сайт-направленным ферментативным пегилированием (см., например, Sato, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 54:487-504, 2002) (см. также, например, Lu и Felix (1994) *Int. J. Peptide Protein Res.* 43:127-138; Lu и Felix (1993) *Peptide Res.* 6:142-6, 1993; Felix и др., (1995) *Int. J. Peptide Res.* 46:253-64; Benhar и др., (1994) *J. Biol. Chem.* 269:13398-404; Brumeanu и др., (1995) *J. Immunol.* 154:3088-95; см. также, Caliceti и др., (2003) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55 (10):1261-77 и Molineux (2003) *Pharmacotherapy* 23 (8 часть 2): 3-8). По методам и методикам, описанным в уровне техники, можно получать белки, имеющие 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более 10 ПЭГ или производных ПЭГ, присоединенных к одной молекуле белка (см., например, U.S. 2006/0104968).

В уровне техники описаны многочисленные реагенты для пегилирования. Такие реагенты включают, но не ограничиваются N-гидроксисукцинимидил(NHS)-активированным ПЭГ, сукцинимидил-мПЭГ, мПЭГ<sub>2</sub>-N-гидроксисукцинимидом, мПЭГ-сукцинимидил-альфа-метилбутаноатом, мПЭГ-сукцинимидилпропионатом, мПЭГ-сукцинимидилбутаноатом, сукцинимидиловым эфиром мПЭГ-карбоксиметил-3-гидроксипропановой кислоты, гомобифункциональным ПЭГ-сукцинимидилпропионатом, гомобифункциональным ПЭГ-пропиональдегидом, гомобифункциональным ПЭГ-бутиральдегидом, ПЭГ-малеимидом, ПЭГ-гидразидом, ПЭГ-п-нитрофенил-карбонатом, мПЭГ-бензотриазолкарбонатом, ПЭГ-пропиональдегидом, мПЭГ-бутиральдегидом, разветвленным мПЭГ<sub>2</sub>-бутиральдегидом, мПЭГ-ацетилом, мПЭГ-пиперидоном, мПЭГ-метилкетонном, безлинкерным мПЭГ-малеимидом, мПЭГ-винилсульфоном, мПЭГ-тиолом, мПЭГ-ортопиридилтиоэфиром, мПЭГ-ортопиридилдисульфидом, Fmoc-ПЭГ-NHS, Boc-ПЭГ-NHS, ПЭГ-NHS-винилсульфоном, ПЭГ-NHS-акрилатом, ПЭГ-NHS-флуоресцеином, и ПЭГ-NHS-биотином (см., например, Monfardini и др., *Bioconjugate Chem* 6:62-69, 1995; Veronese и др., *J. Bioactive Compatible Polymers* 12:197-207, 1997; U.S. 5,672,662; U.S. 5,932,462; U.S. 6,495,659; U.S. 6,737,505; U.S. 4,002,531; U.S. 4,179,337; U.S. 5,122,614; U.S. 5,183,550; U.S. 5,324, 844; U.S. 5,446,090; U.S. 5,612,460; U.S. 5,643,575; U.S. 5,766,581; U.S. 5,795, 569; U.S. 5,808,096; U.S. 5,900,461; U.S. 5,919,455; U.S. 5,985,263; U.S. 5,990, 237; U.S. 6,113,906; U.S. 6,214,966; U.S. 6,258,351; U.S. 6,340,742; U.S. 6,413,507; U.S. 6,420,339; U.S.

6,437,025; U.S. 6,448,369; U.S. 6,461,802; U.S. 6,828,401; U.S. 6,858,736; U.S. 2001/0021763; U.S. 2001/0044526; U.S. 2001/0046481; U.S. 2002/0052430; U.S. 2002/0072573; U.S. 2002/0156047; U.S. 2003/0114647; U.S. 2003/0143596; U.S. 2003/0158333; U.S. 2003/0220447; U.S. 2004/0013637; US 2004/0235734; U.S. 2005/000360; U.S. 2005/0114037; U.S. 2005/0171328; U.S. 2005/0209416; EP 01064951; EP 0822199; WO 00176640; WO 0002017; WO 0249673; WO 9428024; и WO 0187925).

### **Другие модификации**

Полипептиды esPH20 и другие укороченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу также включают их конъюгаты и слитые полипептиды.

### **Е. Способы получения нуклеиновых кислот, кодирующих длинные растворимые PH20 и другие растворимые гиалуронидазы PH20, и их полипептидов**

Длинные растворимые полипептиды PH20, усеченные с С-конца гиалуронидазы PH20 и частично гликозилированные гиалуронидазы PH20 по настоящему документу, а также молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие такие полипептиды, могут быть получены хорошо известными в уровне техники методами рекомбинантной экспрессии и очистки белков. Например, ДНК может быть получена из клонированной ДНК (например, из библиотеки ДНК), путем химического синтеза, клонированием кДНК, клонированием геномной ДНК или ее фрагментов, очищенных из необходимых видов клеток. Если полипептиды получают рекомбинантными методами, могут быть использованы любые известные специалистам в данной области методы идентификации нуклеиновых кислот, кодирующих желаемые гены. Для получения, например, из клеток или тканей полноразмерных (т.е. охватывающих всю кодирующую область) кДНК или геномных ДНК, кодирующих фермент PH20, может быть использован любой метод, известный в уровне техники. Модифицированные полипептиды или варианты полипептидов, в том числе усеченные формы, например, предусмотренные в данном изобретении, могут быть получены из полипептида дикого типа с применением стандартных технологий рекомбинантной ДНК.

Полипептиды можно клонировать или выделять с помощью любых доступных известных в уровне техники методов клонирования и выделения молекул нуклеиновых кислот. Такие методы включают ПЦР-амплификацию нуклеиновых кислот и скрининг библиотек, включая скрининг гибридизацией нуклеиновых кислот, скрининг с помощью антител и скрининг по активности.

Для выделения молекул нуклеиновых кислот, кодирующих желаемый полипептид, могут быть использованы методы амплификации нуклеиновых кислот, включая, например, полимеразную цепную реакцию (ПЦР). ПЦР может быть проведена с использованием любых известных в уровне техники процедур и методов. Например, могут быть использованы ПЦР-амплификатор Perkin-Elmer Cetus и Taq-полимераза (от Gene Amp). В качестве исходного материала, из которого может быть выделена желаемая кодирующая полипептид молекула нуклеиновой кислоты, может быть использован содержащий нуклеиновые кислоты материал. Например, в методах амплификации могут быть использованы препараты ДНК и РНК, клеточные экстракты, тканевые экстракты из подходящих источников (например, яичек, предстательной железы, молочной железы), образцы жидкостей (например, крови, сыворотки, слюны), образцы, взятые у здоровых и/или больных субъектов. Нуклеиновые кислоты могут быть получены из любого вида эукариот, включая, но не ограничиваясь позвоночными животными, млекопитающими, человеком, свиньей, быком, кошкой, птицами, лошадьми, собаками, приматами. В качестве источника исходного материала также могут быть использованы библиотеки нуклеиновых кислот. Для амплификации желаемого полипептида могут быть разработаны соответствующие праймеры. Например, праймеры могут быть разработаны на основе экспрессируемых последовательностей, с которых был синтезирован желаемый полипептид. Праймеры могут быть разработаны на основе обратной трансляции аминокислотной последовательности полипептида. При необходимости, для амплификации могут быть использованы вырожденные праймеры. В качестве праймеров для амплификации последовательности из образца нуклеиновых кислот методом ПЦР могут быть использованы олигонуклеотидные затравки, которые гибридизуются с последовательностями на 3' и 5' конце желаемой последовательности. Праймеры могут быть использованы для амплификации всей полноразмерной последовательности РН20 или ее усеченной последовательности, например, последовательности, кодирующей любой из предусмотренных в данном изобретении растворимых полипептидов РН20. Для подтверждения кодирования желаемого полипептида может быть определена последовательность молекул нуклеиновых кислот, полученных в результате амплификации.

К кодирующей полипептид молекуле нуклеиновой кислоты могут быть присоединены дополнительные нуклеотидные последовательности, в том числе линкерные последовательности, содержащие сайты рестрикции для клонирования синтетического гена в вектор, например, в вектор экспрессии белка или в вектор,



предназначенный для амплификации кодирующей белок последовательности ДНК. Кроме того, с кодирующей полипептид молекулой нуклеиновой кислоты могут быть функционально связаны дополнительные нуклеотидные последовательности, являющиеся функциональными элементами ДНК. Примеры таких последовательностей включают, но не ограничиваются промоторными последовательностями, способствующими внутриклеточной экспрессии белка, и последовательностями для секреции, например гетерологичными сигнальными последовательностями, предназначенными для облегчения секреции белка. Такие последовательности известны специалистам в данной области. Примеры гетерологичных сигнальных последовательностей включают, но не ограничиваются гетерологичными сигнальными последовательностями IgG каппа человека и мыши, приведенными в SEQ ID NO: 144 и 145, соответственно. Дополнительные последовательности нуклеотидных остатков, такие как последовательности оснований, кодирующие связывающие белки районы, также могут быть связаны с кодирующей фермент молекулой нуклеиновой кислоты. Такие районы включают, но не ограничиваются последовательностями остатков, которые способствуют поглощению фермента конкретными клетками-мишенями или которые кодируют белки, способствующие такому поглощению, или которые иным образом изменяют фармакокинетику продукта синтетического гена.

Кроме того, к полипептиду могут быть добавлены метки или другие фрагменты, например, способствующие обнаружению или аффинной очистке полипептида. Например, с кодирующей фермент молекулой нуклеиновой кислоты могут быть связаны дополнительные последовательности нуклеотидных остатков, такие как последовательности оснований, кодирующие эпитопную метку или другой обнаруживаемый маркер. Примеры таких последовательностей включают последовательности нуклеотидов, кодирующие His-метку (например, 6×His, НННННН; SEQ ID NO: 54) или Flag-метку (DYKDDDDK; SEQ ID NO: 55).

Идентифицированные и выделенные нуклеиновые кислоты могут быть вставлены в соответствующий вектор клонирования. Может быть использовано большое количество известных в уровне техники систем вектор-хозяин. Возможные векторы включают, но не ограничиваются плазмидами или модифицированными вирусами, причем векторная система должна быть совместима с используемой клеткой-хозяином. Такие векторы включают, но не ограничиваются бактериофагами, такими как производные бактериофага лямбда, или плазмидами, такими как pCMV4, pBR322 или pUC плазмиды, или производные вектора Bluescript (Stratagene, La Jolla,

Калифорния). Другие векторы экспрессии включают вектор экспрессии HZ24, приведенный в качестве примера в данном изобретении (приведен в SEQ ID NO: 140). Вставка в вектор для клонирования, например, может быть осуществлена лигированием фрагмента ДНК в вектор клонирования, который обладает комплементарными липкими концами. Если для фрагментации ДНК использовали комплементарные сайты рестрикции, которых нет в векторе клонирования, концы молекулы ДНК могут ферментативно модифицированы. Кроме того, любой желаемый сайт может быть получен лигированием нуклеотидных последовательностей (линкеров) на концах ДНК, эти лигированные линкеры могут содержать специфические химически синтезированные олигонуклеотиды, кодирующие последовательность, распознаваемую эндонуклеазой рестрикции. В альтернативном методе расщепленный вектор и ген белка могут быть модифицированы достраиванием гомополимерного хвоста. Вставка может осуществляться с использованием векторов клонирования ТОРО (Invitrogen, Carlsbad, Калифорния). В конкретных вариантах трансформация клеток-хозяев рекомбинантными молекулами ДНК, которые включают выделенный ген белка, кДНК или синтезированные последовательности ДНК, позволяет получать множество копий гена. Таким образом, ген может быть получен в больших количествах в растущих трансформантах с последующим выделением рекомбинантных молекул ДНК из трансформантов и, при необходимости, получением вставленного гена из выделенной рекомбинантной ДНК.

В дополнение к рекомбинантному получению растворимые PH20, включая любые esPH20 по настоящему документу, могут быть получены прямым пептидным синтезом твердофазным методом (см., например, Stewart и др. (1969) *Solid-Phase Peptide Synthesis*, WH Freeman Co, Сан Франциско; Merrifield J. (1963) *J. Am. Chem. Soc.*, 85:2149-2154). In vitro синтез белка может быть проведен вручную или может быть автоматизирован. Автоматизированный синтез может быть проведен, например, с помощью пептидного синтезатора Applied Biosystems 431A (Perkin Elmer, Foster City, Калифорния) в соответствии с инструкциями производителя. Различные фрагменты полипептида могут быть химически синтезированы по отдельности и объединены с помощью химических методов.

### **1. Векторы и клетки**

Для рекомбинантной экспрессии одного или более желаемых белков, таких как любые описанные здесь белки, нуклеиновые кислоты, содержащие всю кодирующую белок нуклеотидную последовательность или ее часть, могут быть

вставлены в соответствующий вектор экспрессии, т. е. вектор, который содержит необходимые элементы для транскрипции и трансляции вставленной кодирующей белок последовательности. Необходимые сигналы транскрипции и трансляции также могут содержаться в нативном промоторе гена PH20 и/или в его фланкирующих районах.

Кроме того, предусмотрены векторы, которые содержат нуклеиновые кислоты, кодирующие фермент. Клетки, содержащие векторы, также предусмотрены. Клетки включают эукариотические клетки и прокариотические клетки, и векторы представляют собой любые подходящие для использования в них векторы.

Предусмотрены прокариотические и эукариотические клетки, включая клетки эндотелия, содержащие векторы. Такие клетки включают бактериальные клетки, клетки дрожжей, клетки грибов, археи, растительные клетки, клетки насекомых и животные клетки. Клетки используют для получения белка с помощью выращивания описанных выше клеток в условиях, в которых закодированные белки экспрессируются клеткой, и выделения экспрессированного белка. В настоящем изобретении, например, растворимые полипептиды PH20, включая длинные растворимые полипептиды PH20, могут быть секретированы в среду.

Штамм клеток-хозяев может быть выбран по его способности к экспрессии введенной последовательности или по способности к нужному процессингу экспрессированного белка. Процессинг полипептида включает, но не ограничивается ацетилированием, карбоксилированием, гликозилированием, фосфорилированием, присоединением липидов и ацилированием. Посттрансляционный процессинг может повлиять на фолдинг и/или функционирование полипептида. Различные клетки-хозяева, включая, но не ограничиваясь CHO (DG44, DXB11, CHO-K1), HeLa, MCDK, 293 и WI38, обладают специфическими клеточными инструментами и характерными механизмами для пост-трансляционной модификации, и поэтому могут быть выбраны для правильной модификации и процессинга введенного белка. Как правило, выбирают такой тип клеток, который способен провести N-гликозилирование экспрессированного полипептида. Таким образом, предусмотрены эукариотические клетки, содержащие векторы. Примеры эукариотических клеток включают клетки млекопитающих, например, клетки яичников китайского хомячка (CHO). Например, для получения предусмотренных в данном изобретении полипептидов используют дефицитные по дигидрофолатредуктазе клетки CHO (например, клетки DG44). Бактериальная экспрессия растворимых длинных PH20

или укороченных с С-конца РН20 по настоящему документу не приведет к каталитически активному полипептиду, но при наличии надлежащих ферментов гликозилирования РН20 может быть искусственно гликозилирован.

Изобретение включает векторы, которые содержат последовательность нуклеотидов, кодирующую полипептид гиалуронидазы, включая длинные растворимые полипептиды РН20 и укороченные с С-конца РН20, связанные с нативной или гетерологичной сигнальной последовательностью, или несколькими ее копиями. Векторы могут быть выбраны для экспрессии фермента в клетке, вектор также может обеспечивать секрецию экспрессированного фермента.

Для экспрессии кодирующей последовательности белка могут быть использованы различные системы хозяин-вектор. Они включают, но не ограничиваются системами клеток млекопитающих, инфицированных вирусом (например, вирусом осповакцины, аденовирусом и другими вирусами); системами клеток насекомых, инфицированных вирусом (например, бакуловирусом); микроорганизмами, такими как дрожжи, содержащие дрожжевые векторы, или бактериями, трансформированными бактериофагом, ДНК, плазмидной ДНК или космидной ДНК. Экспрессионные элементы векторов варьируют по силе и специфичности. В зависимости от используемой системы хозяин-вектор может быть использован любой подходящий транскрипционный и трансляционный элемент.

Для конструирования векторов экспрессии, содержащих химерный ген, включающий соответствующие сигналы контроля транскрипции/трансляции и кодирующие белок последовательности, могут быть использованы любые методы вставки фрагментов ДНК в вектор, известные специалистам в данной области. Эти методы могут включать рекомбинацию и синтез ДНК *in vitro* или рекомбинацию *in vivo* (генетическую рекомбинацию). Экспрессию последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей белок, его домены, производные, фрагменты или гомологи, можно регулировать с использованием второй последовательности нуклеиновой кислоты, которая приводит к экспрессии генов или их фрагментов в трансформированном молекулой (молекулами) рекомбинантной ДНК хозяине. Например, экспрессией белков можно управлять с помощью любого промотора/энхансера, известного в уровне техники. В одном варианте промотор не является нативным для генов желаемого белка. Промоторы, которые могут быть использованы, включают, но не ограничиваются ранним промотором SV40 (Bernoist и Chambon, *Nature* 290: 304-310 (1981)), промотором, содержащимся в 3'-длинном концевом повторе вируса саркомы Рауса (Yamamoto и др., *Cell* 22:781-791 (1980)),

промотором тимидинкиназы герпеса (Wagner и др., *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 75:1441-1445 (1981)), регуляторными последовательностями гена металлотионеина (Brinster и др., *Nature* 296:39-42 (1982)), промоторами прокариотических векторов экспрессии, включающими промотор  $\beta$ -лактамазы (Jay и др., (1981). *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 75: 5543) или *tac* промотор (DeBoer и др., *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 80:21-25 (1983)), см. также "Useful Proteins from Recombinant Bacteria" в журнале *Scientific American* 242:79-94 (1980); векторы экспрессии растений включают промотор нопалин-синтетазы (Herrera-Estrella и др., *Nature* 305:209-213 (1984)), промотор 35S РНК вируса мозаики цветной капусты (Gardner и др., *Nucleic Acids Res.* 9:2871 (1981)) и промотор фермента фотосинтеза рибулозобисфосфаткарбоксилазы (Herrera-Estrella и др., *Nature* 310: 115-120 (1984)); промоторные элементы дрожжей и других грибов включают промотор Gal4, промотор алкогольдегидрогеназы, промотор фосфоглицеролкиназы, промотор щелочной фосфатазы; районы контроля транскрипции животных, которые проявляют тканеспецифичность и которые были использованы в трансгенных животных, включают контролирующий район гена эластазы I, который активен в ацинарных клетках поджелудочной железы (Swift и др., *Cell* 35:639-646 (1984); Ornitz и др., *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 50:399-409 (1986); MacDonald, *Hepatology* 7:425-515 (1987)); контролирующий район гена инсулина, активный в бета-клетках поджелудочной железы (Hanahan и др., *Nature* 315: 115-122 (1985)), контролирующий район генов иммуноглобулинов, который активен в лимфоидных клетках (Grosschedl и др., *Cell* 35:647-658 (1984); Adams и др., *Nature* 318:533-538 (1985); Alexander и др., *Mol. Cell Biol.* 7:1436-1444 (1987)), контролирующий район вируса опухоли молочной железы мыши, активный в яичках, молочной железе, лимфоидных и тучных клетках (Leder и др., *Cell* 45:485-495 (1986)), контролирующий район гена альбумина, активный в печени (Pinckert и др., *Genes and Devel.* 7:268-276 (1987)), контролирующий район гена альфа-фетобелка, активный в печени (Krumlauf и др., *Mol. Cell Biol.* 5: 1639-1648 (1985); Hammer и др., *Science* 235: 53-58 (1987)), контролирующий район гена альфа-1-антитрипсина, активный в печени (Kelsey и др., *Genes and Devel* 7: 161-171 (1987)), контролирующий район гена бета-глобина, активный в миелоидных клетках (Mogam и др., *Nature* 375:338-340 (1985); Kollias и др., *Cell* 46:89-94 (1986)), контролирующий район гена основного белка миелина, активный в олигодендроцитах мозга (Readhead и др., *Cell* 45:703-712 (1987)), контролирующий район гена легких цепей-2 миозина, активный в скелетных мышцах (Shani, *Nature* 374:283-286 (1985)) и контролирующий район гена гонадотропного релизинг-

гормона, активный в гонадотрофocyтaх гипоталамуса (Mason и др., *Science* 234: 1372-1378 (1986)).

В конкретном варианте используют вектор, который содержит промотор, функционально связанный с нуклеиновой кислотой, кодирующей белок РН20 или его домен, фрагмент, производное или гомолог, вектор также содержит одну или несколько точек начала репликации и, по желанию, один или более селективных маркеров (например, ген устойчивости к антибиотику). В зависимости от системы экспрессии для эффективной трансляции последовательности РН20 также необходимы специфические сигналы инициации. Указанные сигналы включают иницирующий кодон АТГ и соседние последовательности. Если иницирующий кодон и вышерасположенные последовательности РН20 или ее растворимой формы вставлены в соответствующий вектор экспрессии, никаких дополнительных сигналов контроля трансляции не требуется. Если в вектор экспрессии введена только кодирующая последовательность или ее часть, должны быть предусмотрены экзогенные сигналы контроля трансляции, включая иницирующий кодон АТГ. Кроме того, для правильной транскрипции всей вставки иницирующий кодон должен быть в правильной рамке считывания. Экзогенные транскрипционные элементы и иницирующий кодон могут быть различного происхождения, могут быть природными и синтетическими. Эффективность экспрессии может быть повышена за счет введения подходящих для используемой клеточной системы энхансеров (Scharf и др., (1994) *Results Probl Cell Differ* 20:125-62; Bittner и др., (1987) *Methods in Enzymol*, 153: 516-544).

Примеры плазмидных векторов для трансформации клеток *E.coli* включают, например, векторы экспрессии рQE (доступные от Qiagen, Valencia, Калифорния, см. также литературу, опубликованную Qiagen для описания системы). рQE вектор включает промотор бактериофага Т5 (распознается РНК-полимеразой *E.coli*), двойной участок репрессии в Lac-операторе для жестко регулируемой высокой экспрессии рекомбинантных белков в *E.coli*, синтетический сайт связывания рибосом (RBS II) для эффективной трансляции, последовательность, кодирующую 6×His метку,  $t_0$  и Т1 терминаторы транскрипции, точку начала репликации ColEI и ген бета-лактамазы для устойчивости к ампициллину. рQE вектор позволяет присоединять 6×His метку на N-конце или C-конце рекомбинантного белка. Такие плазмиды включают рQE 32, рQE 30 и рQE 31, которые включают сайты множественного клонирования для всех трех рамок считывания и обеспечивают экспрессию белков с N-концевой 6×His меткой. Другие примеры плазмидных

векторов для трансформации клеток *E.coli* включают, например, векторы экспрессии pET (см., патент США 4952496; вектор доступен от Novagen, Madison, Висконсин, см. также опубликованную Novagen литературу с описанием системы). Такие плазмиды включают pET11a, которая содержит промотор T7lac, T7 терминатор, индуцируемый lac-оператор *E.coli* и ген lac-репрессора; pET12a-с, которая содержит промотор T7, терминатор T7 и сигнал секреции ompT из *E.coli*; pET15b и pET19b (Novagen, Madison, Висконсин), которые содержат лидерную последовательность His-Tag™ для очистки на His колонке и сайт расщепления тромбином, который позволяет осуществить расщепление после очистки на колонке, T7-lac промоторный район и T7 терминатор.

Примером вектора для экспрессии в клетках млекопитающих является вектор экспрессии HZ24. Вектор экспрессии HZ24 был получен из вектора pCI (Promega). Он содержит ДНК, кодирующую бета-лактамазный ген устойчивости (AmpR), точку начала репликации F1, немедленный ранний энхансерный/промоторный район цитомегаловируса (CMV) и поздний сигнал полиаденилирования SV40 (SV40). Вектор экспрессии также включает внутренний сайт посадки рибосомы (IRES) от вируса ЕСМV (Clontech) и ген дигидрофолатредуктазы мыши (DHFR). Трансфецированные таким вектором клетки можно культивировать в среде с химически определенным составом в отсутствие гипоксантина и тимидина, после чего при увеличении концентрации метотрексата в среде можно добиться дополнительной амплификации гена. Указанные методы описаны здесь в Примерах 13 и 15.

## 2. Экспрессия

Полипептиды PH20, в том числе полипептиды esPH20 и укороченные с С-конца полипептиды PH20 по настоящему документу могут быть получены любым методом, известным специалистам в данной области, в том числе *in vivo* и *in vitro* методами. Желаемые белки могут быть экспрессированы в любом организме, подходящем для получения необходимого количества белка и необходимой формы белка, требуемых для введения и лечения. Хозяева в системах экспрессии включают прокариотические и эукариотические организмы, такие как *E. coli*, дрожжи, растения, клетки насекомых, клетки млекопитающих, в том числе клеточные линии человека, и трансгенные животные. Хозяева систем экспрессии могут отличаться уровнями экспрессии белка, а также типом посттрансляционных модификаций, которые присутствуют на экспрессированных белках. Выбор хозяина системы экспрессии может быть сделан на основе перечисленных и других факторов, таких

как нормативные ограничения и соображения безопасности, издержки производства, необходимость очистки и способы очистки.

Множество векторов экспрессии доступно и известно специалистам в данной области, и может быть использовано для экспрессии белков. Выбор вектора экспрессии зависит от выбора хозяина системы экспрессии. В общем, векторы экспрессии могут включать транскрипционные промоторы и, по желанию, энхансеры, сигналы трансляции и сигналы терминации транскрипции и трансляции. Векторы экспрессии, которые используют для стабильной трансформации, обычно имеют селективные маркеры, которые позволяют отбирать и поддерживать трансформированные клетки. В некоторых случаях для амплификации вектора могут быть использованы точки начала репликации.

Растворимые полипептиды гиалуронидазы, в том числе esPH20 и другие укороченные с С-конца полипептиды PH20, также могут быть использованы или экспрессированы в виде белков слияния. Например, может быть получен слитый фермент с дополнительной функцией. Примеры слитых ферментов включают, но не ограничиваются белками слияния с сигнальными последовательностями, такими как метки для локализации, такие как *his*<sub>6</sub> метка или *myc* метка, или метки для очистки, такие как GST, белками слияния с последовательностями для направления секреции белков и/или ассоциации с мембраной и с другими последовательностями, применяемыми для увеличения периода полураспада, например, последовательностью Fc.

Для длительной высокопроизводительной продукции рекомбинантных белков необходима их стабильная экспрессия. Например, клеточные линии, стабильно экспрессирующие растворимую PH20, такую как esPH20 или другой укороченный с С-конца полипептид PH20, могут быть трансформированы вектором экспрессии, содержащим точку начала репликации вируса, эндогенные элементы экспрессии и маркерный ген для отбора. После введения вектора клетки можно культивировать в течение 1-2 дней в обогащенной среде, а затем перенести на селективную среду. Селективный маркер придает трансформантам свойство устойчивости при селекции, и его присутствие позволяет культивировать и поддерживать клетки, которые успешно экспрессируют введенные последовательности. Пролиферацию устойчивых стабильно трансформированных клеток можно поддерживать с применением приемлемых для соответствующего типа клеток методов культивирования тканей.

Для поддержания трансформированных клеточных линий может быть использовано любое количество систем селекции. Системы включают, но не



ограничиваются системами с генами тимидинкиназы вируса простого герпеса (Wigler M. и др., (1977) *Cell*, 11: 223-32.) и аденинфосфорибозилтрансферазы (Lowy I. и др., (1980) *Cell*, 22: 817-23), которые могут быть использованы в ТК- или APRT-клетках, соответственно. Кроме того, в качестве основы для селекции может быть использована устойчивость к антиметаболитам, антибиотикам и гербицидам. Например, могут быть использованы ген DHFR, который придает устойчивость к метотрексату (Wigler M. и др., (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 77: 3567-70); ген npt, который придает устойчивость к аминогликозидам неомицину и G-418 (Colbere-Garapin F. и др., (1981) *J. Mol. Biol.* 150: 1-14); и гены als или pat, которые придают устойчивость к хлорсульфону и фосфинотрицину, соответственно. Были описаны дополнительные гены для отбора, например, trpB, который позволяет клеткам использовать индол вместо триптофана, или hisD, который позволяет клеткам использовать гистинол вместо гистидина (Hartman SC и Mulligan RC (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85: 8047-51). Для идентификации трансформантов, а также количественной оценки временной или стабильной экспрессии белка при использовании определенной векторной системы также могут быть использованы видимые маркеры, включая, но не ограничиваясь антоцианами, бета-глюкуронидазой и et субстратом, GUS? и люциферазой и ее субстратом люциферин (Rhodes CA и др., (1995) *Methods Mol. Biol.* 55: 121-131).

Наличие экспрессии и уровень экспрессии растворимых полипептидов PH20, в том числе esPH20 и других усеченных с С-конца полипептидов PH20, могут быть установлены. Например, наличие функциональных полипептидов может быть определено путем исследования кондиционированной среды на гиалуронидазную ферментативную активность при соответствующих условиях. В разделе G ниже представлены примеры анализов для оценки растворимости и активности экспрессированных белков.

#### **а. Прокариотические клетки**

Прокариоты, особенно *E. coli*, представляют собой системы для получения большого количества белка. Трансформация *E. coli* представляет собой простой и быстрый метод, хорошо известный специалистам в данной области. Векторы экспрессии *E. coli* могут содержать индуцибельный промотор, полезный для стимулирования высоких уровней экспрессии белка и для экспрессии белков, которые проявляют токсичность для клеток-хозяев. Примеры индуцибельных промоторов включают lac-промотор, trp промотор, гибридный tac промотор, T7 и SP6 РНК промоторы и термочувствительный  $\lambda P_L$  промотор.

Белок, такой как любой предусмотренный в данном изобретении белок, может быть экспрессирован в цитоплазматической среде *E. coli*. Цитоплазма представляет собой восстановительную среду, и для некоторых молекул это может привести к образованию нерастворимых телец включения. Для ресольюбилизации белков могут быть использованы восстанавливающие агенты, такие как дитиотреитол и  $\beta$ -меркаптоэтанол, и денатурирующие агенты, такие как гуанидин-HCl и мочевина. Альтернативный подход состоит в экспрессии белка в периплазматическом пространстве бактерий, которое предоставляет окислительную среду, шаперонин-подобные белки и дисульфидизомеразы, что приводит к образованию растворимого белка. Как правило, с экспрессируемым белком сливают лидерную последовательность, которая направляет белок в периплазму. Затем лидерная последовательность удаляется сигнальной пептидазой внутри периплазмы. Примеры лидерных последовательностей, направляющих белки в периплазму, включают лидерную последовательность гена пектатлиазы *relB* и лидерную последовательность гена щелочной фосфатазы. В некоторых случаях периплазматическая экспрессия приводит к утечке экспрессированного белка в культуральную среду. Секреция белков позволяет быстро и просто очистить белки от культурального супернатанта. Не секретируемые белки могут быть получены из периплазмы с помощью осмотического лизиса. Как и при цитоплазматической экспрессии в некоторых случаях белки могут стать нерастворимыми, и для облегчения растворения и рефолдинга белков могут быть использованы денатурирующие агенты и восстановители. Температуры индукции и культивирования также могут влиять на уровень экспрессии и растворимость белков, как правило, используются температуры между 25°C и 37°C. Как правило, бактерии производят агликозилированные белки. Таким образом, если для функционирования белки требуют гликозилирования, то гликозилирование может быть осуществлено *in vitro* после очистки из клетки-хозяина.

#### **в. Клетки дрожжей**

Дрожжи, такие как *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Yarrowia lipolytica*, *Kluyveromyces lactis* и *Pichia pastoris*, являются хорошо известными дрожжевыми хозяевами систем экспрессии и могут быть полезны для получения белков, таких как описанные в данном изобретении. Дрожжи могут быть трансформированы эписомными репликативными векторами или стабильной интеграцией в хромосомы путем гомологичной рекомбинации. Как правило, для регуляции экспрессии генов используют индуцируемые промоторы. Примеры таких

промоторов включают промоторы GAL1, GAL7, GAL5 и металлотионеиновые промоторы, такие как CUP1, AOX или другие промоторы *Picnia* или других дрожжей. Для отбора и поддержания трансформированной ДНК векторы экспрессии часто включают селективные маркеры, такие как LEU2, TRP1, HIS3 и URA3. Экспрессируемые в дрожжах белки часто являются растворимыми, а коэкспрессия с шаперонинами, такими как Bir и протеиндисульфидизомераза, может повысить уровень экспрессии и растворимость белка. Кроме того, экспрессируемые в дрожжах белки могут быть направлены для секреции с использованием слитого сигнального пептида секреции, такого как сигнал секреции альфа-фактора типа спаривания дрожжей из *Saccharomyces cerevisiae*, и слитого сигнального пептида белков поверхности клетки дрожжей, таких как адгезивный рецептор спаривания Aga2p или глюкоамилаза *Arxula adenivorans*. Для удаления слитой последовательности из полипептидов после секреции может быть введен сайт расщепления протеазой (например, протеазой Kex-2). Дрожжи также способны к гликозилированию мотива Asn-X-Ser/Thr.

### **с. Клетки насекомых**

Клетки насекомых, в частности при использовании системы бакуловирусной экспрессии, полезны для экспрессии полипептидов, таких как полипептиды гиалуронидазы. Клетки насекомых экспрессируют высокие уровни белка и способны осуществлять большинство посттрансляционных модификаций высших эукариот. Бакуловирусы имеют ограниченный диапазон хозяев, что повышает безопасность и снижает нормативные ограничения, присущие системам эукариотической экспрессии. Как правило, в векторах экспрессии для высокого уровня экспрессии белка используют промотор полиэдрина бакуловируса. Обычно используемые бакуловирусные системы включают такие бакуловирусы как вирус ядерного полиэдроза *Autographa californica* (AcNPV) и вирус ядерного полиэдроза *Bombyx mori* (BmNPV) и линии клеток насекомых, такие как Sf9, полученная из *Spodoptera frugiperda*, *Pseudaletia unipuncta* (A7S) и *Danaus plexippus* (DpN1). Для достижения высокого уровня экспрессии нуклеотидную последовательность молекулы, которая будет экспрессирована, присоединяют непосредственно после инициаторного кодона полиэдрина вируса. Сигналы секреции млекопитающих точно процессируются в клетках насекомых и могут быть использованы для секреции экспрессированного белка в культуральную среду. Кроме того, клеточные линии *Pseudaletia unipuncta* (A7S) и *Danaus plexippus* (DpN1) производят белки, гликозилирование которых похоже на гликозилирование в клеточных системах

млекопитающих. Примеры клеток насекомых включают клетки, которые были модифицированы для уменьшения иммуногенности, включая модифицированные бакуловирусными векторами экспрессии клетки и клетки, в которых отсутствует фермент FT3.

Альтернативной системой экспрессии в клетках насекомых является использование стабильно трансформированных клеток. Для экспрессии могут быть использованы такие клеточные линии, как Schnieder 2 (S2), Кс клетки (*Drosophila melanogaster*) и C7 клетки (*Aedes albopictus*). Для достижения высокого уровня экспрессии может быть использован промотор металлотионеина *Drosophila* с индукцией тяжелыми металлами кадмием и медью. Векторы экспрессии, как правило, поддерживают за счет использования селективных маркеров, таких как неомицин и гигромицин.

#### **d. Клетки млекопитающих**

Для экспрессии белков, включая полипептиды растворимой гиалуронидазы, могут быть использованы системы экспрессии млекопитающих. Экспрессионные конструкции могут быть введены в клетки млекопитающих посредством вирусной инфекции, например, с помощью аденовируса, или путем прямого переноса ДНК, например, с помощью липосом, фосфата кальция, ДЭАЭ-декстрана и физических методов, таких как электропорация и микроинъекция. Векторы экспрессии для клеток млекопитающих обычно включают сайт экпирования мРНК, ТАТА-бокс, последовательность инициации трансляции (консенсусную последовательность Козака) и элементы полиаденилирования. Для бицистронной экспрессии с другим геном, таким как селективный маркер, могут быть использованы IRES элементы. Такие векторы для достижения высокого уровня экспрессии часто включают промоторы и энхансеры транскрипции, например промотор-энхансер SV40, промотор цитомегаловируса человека (CMV) и длинный концевой повтор вируса саркомы Рауса (RSV). Указанные промоторы-энхансеры действуют во многих типах клеток. Также для экспрессии могут быть использованы тканеспецифичные и специфичные к определенным типам клеток промоторы и энхансерные районы. Примеры промоторных/энхансерных районов включают, но не ограничиваются районами из таких генов, как ген эластазы I, ген инсулина, гены иммуноглобулинов, промоторным/энхансерным районом вируса опухоли молочной железы мыши, гена альбумина, гена альфа-фетобелка, альфа-1-антитрипсина, бета-глобина, основного белка миелина, легкой цепи-2 миозина и гонадотропного релизинг-гормона. Для отбора и поддержания клеток с экспрессионными конструкциями могут быть

использованы селективные маркеры. Примеры селективных маркеров включают, но не ограничиваются генами гигромицин-В-фосфотрансферазы, аденозиндезаминазы, ксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы, аминогликозидфосфотрансферазы, дигидрофолатредуктазы (DHFR) и тимидинкиназы. Например, экспрессию можно проводить в присутствии метотрексата для отбора клеток, экспрессирующих ген дигидрофолатредуктазы. Слитые с сигнальными молекулами клеточной поверхности, такими как TCR- $\zeta$  и Fc $\epsilon$ RI- $\gamma$ , белки могут непосредственно экспрессироваться в активном состоянии на поверхность клеток.

Для экспрессии в млекопитающих доступны многие клеточные линии, включая клетки мыши, крысы, человека, обезьяны, курицы и хомяка. Примеры линий клеток включают, но не ограничиваются CHO, Balb/3T3, HeLa, MT2, мышинными NSO (не секретирующие) и другими клеточными линиями миеломы, гибридомными и гетерогибридомными клеточными линиями, лимфоцитами, фибробластами, SP2/0, COS, NIH3T3, HEK293, 293S, 293T, 2B8 и НКВ клетками. Также доступны адаптированные к бессывороточной среде клеточные линии, что облегчает очистку секретируемых белков из культуральной среды. Примеры включают клетки CHO-S (Invitrogen, Carlsbad, Калифорния, лот # 11619-012) и бессывороточную линию клеток EBNA-I (Pham и др., (2003) *Biotechnol Bioeng.* 84:332-42). Также доступны линии клеток, адаптированные для роста в специальной среде, оптимизированной для максимальной экспрессии. Например, клетки CHO DG44 адаптированы для роста в суспензионной культуре в свободной от продуктов животного происхождения среде с химически определенным составом.

#### **е. Растения**

Для экспрессии белков, таких как любые описанные в настоящем изобретении белки, могут быть использованы трансгенные клетки растений и трансгенные растения. Экспрессионные конструкции, как правило, переносят в растения с использованием прямого переноса ДНК, такого как бомбардировка микрочастицами и ПЭГ-опосредованный перенос в протопласты, или с использованием агробактериальной трансформации. Векторы экспрессии могут включать промоторные и энхансерные последовательности, элементы терминации транскрипции и элементы контроля трансляции. Векторы экспрессии и методы трансформации, как правило, отличаются для двудольных хозяев, таких как *Arabidopsis* и табак, и однодольных хозяев, таких как кукуруза и рис. Примеры промоторов растений, используемых для экспрессии, включают промотор вируса мозаики цветной капусты, промотор нопалинсинтазы, промотор

рибулозобисфосфаткарбоксилазы и промотор убиквитина и UBQ3. Для облегчения отбора и поддержания трансформированных клеток часто используют селективные маркеры, такие как гигромицин, фосфоманнозоизомераза и неомицинофосфотрансфераза. Трансформированные клетки растений можно поддерживать в культуре в виде клеток, агрегатов (калусной ткани) или регенерировать в целые растения. Трансгенные клетки растений также могут включать генетически модифицированные водоросли, предназначенные для получения полипептидов гиалуронидазы. Поскольку паттерны гликозилирования у растений отличаются от гликозилирования в клетках млекопитающих, это может повлиять на выбор белков, продуцируемых в этих хозяевах.

### **3. Способы очистки**

Клетки, трансформированные нуклеиновой кислотой с последовательностью, кодирующей растворимый РН20, в том числе esРН20 и другие усеченные с С-конца полипептиды РН20, можно культивировать в условиях, подходящих для экспрессии и получения из клеточной культуры закодированного белка. Вырабатываемый рекомбинантной клеткой белок, как правило, секретируется, но может также содержаться внутри клетки в зависимости от последовательности и/или используемого вектора. Специалистам в данной области очевидно, что вектор экспрессии, содержащий кодирующую РН20 нуклеиновую кислоту, может включать сигнальную последовательность, облегчающую прямую секрецию РН20 через прокариотическую или эукариотическую клеточную мембрану.

Следовательно, способы очистки полипептидов из клетки-хозяина зависят от выбранной клетки-хозяина и системы экспрессии. В случае секреции белки, в общем, являются очищенными из культуральной среды после удаления клеток. В случае внутриклеточной экспрессии клетки могут быть лизированы, и белки очищают из экстракта. Если для экспрессии используют трансгенные организмы, такие как трансгенные растения и животные, в качестве исходного материала для получения экстракта лизированных клеток могут быть использованы ткани или органы. Кроме того, получение белков в трансгенных животных может включать получение полипептидов в молоке или яйцах, которые могут быть собраны, и затем при необходимости белки могут быть выделены и очищены с использованием стандартных способов, известных в уровне техники.

Белки, такие как растворимые полипептиды РН20, включая esРН20 и другие усеченные с С-конца полипептиды РН20, могут быть очищены с использованием стандартных способов очистки белков, известных в уровне техники, включая, но не

ограничиваясь SDS-PAGE, эксклюзионной хроматографией, хроматографией по размеру, осаждением сульфатом аммония и ионообменной хроматографией, такой как анионообменная хроматография. Для увеличения эффективности очистки и улучшения чистоты получаемых препаратов может быть использована аффинная очистка. Например, для аффинной очистки могут быть использованы антитела, рецепторы и другие молекулы, которые связывают гиалуронидазу. Например, растворимые PH20 могут быть очищены из кондиционированной среды.

В экспрессионных конструкциях к белку может быть добавлена аффинная метка, такая как тус эпитоп, гибридная последовательность GST или His<sub>6</sub>, и аффинная очистка может быть проведена с помощью тус антител, смолы с глутатионом и Ni-смолы, соответственно. Такие метки, которые могут облегчить очистку растворимых белков, могут быть присоединены к нуклеотидной последовательности, кодирующей растворимую PH20, как описано в данном изобретении. Например, растворимая PH20 может быть экспрессирована в виде рекомбинантного белка с одним или несколькими дополнительными полипептидными доменами, добавленными для облегчения очистки белка. Такие облегчающие очистку домены включают, но не ограничиваются хелатирующими металлы пептидами, такими как гистидин-триптофановые модули, которые позволяют проводить очистку на иммобилизованных металлах, доменами белка А, которые позволяют проводить очистку на иммобилизованных иммуноглобулинах, и доменами, применяемыми в системах аффинной очистки FLAGS (Immunex Corp., Сизтл, штат Вашингтон). Облегчению очистки способствует включение между доменом для очистки и экспрессированным полипептидом PH20 расщепляемой, например, фактором Ха или энтерокиназой (Invitrogen, Сан-Диего, Калифорния) линкерной последовательности. Один из экспрессионных векторов для экспрессии гибридного белка, содержащего растворимый PH20, включает последовательность нуклеотидов, кодирующую 6 остатков гистидина, тиоредоксин и сайт расщепления энтерокиназы. Остатки гистидина предназначены для очистки методом IMAC (аффинная хроматография с иммобилизованными ионами металла), в то время как сайт расщепления энтерокиназой позволяет очистить полипептид из слитого белка.

Чистота может быть оценена любым способом, известным в уровне техники, включая гель-электрофорез, двумерная ВЭЖХ, окрашивание и спектрофотометрические методы. Экспрессированный и очищенный белок может быть проанализирован с помощью любого анализа или метода, известного специалисту в данной области, например, любого метода, описанного в разделе G.

Анализы основаны на физических и/или функциональных свойствах белка, включая, но не ограничиваясь анализом методом гель-электрофореза, иммуноферментным анализом и анализом на гиалуронидазную активность.

В зависимости от используемой системы экспрессии и клетки-хозяина из-за присутствующих в культуральной среде при продукции и очистке полипептидов пептидаз полученные полипептиды могут быть гетерогенны. Например, получение растворимых PH20 в клетках CHO может привести к смеси гетерогенных полипептидов. Пример протокола для конструирования, продукции и очистки растворимых PH20 (например, rHuPH20) описан в Примерах 13-15 ниже. Аналогично, например, экспрессия нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептид с последовательностью аминокислот 36-497, приведенной в SEQ ID NO: 60, может привести к гетерогенной смеси полипептидов переменного состава, включающей, например, укороченные с С-конца полипептиды из 497, 496, 495, 494, 493, 492, 491, 490, 489 аминокислот или менее.

#### **Ф. Подготовка, получение композиций и введение длинных растворимых полипептидов PH20 и других растворимых полипептидов PH20**

Данное изобретение предусматривает введение фармацевтических композиций растворимого полипептида PH20, в том числе esPH20. Растворимые полипептиды PH20 могут быть включены в отдельную композицию или могут быть включены в композицию совместно с другими терапевтическими агентами, или введены одновременно с фармацевтическими препаратами других терапевтических агентов, например, как описано в разделе Г. Соединения могут быть включены в подходящие фармацевтические формы, такие как растворы, суспензии, таблетки, растворимые таблетки, драже, капсулы, порошки, препараты с замедленным высвобождением или эликсиры для перорального применения, а также препараты для пластырей с трансдермальным проникновением и сухие порошки для ингаляции. Как правило, соединения включают в фармацевтические композиции с применением методов и процедур, хорошо известных в уровне техники (см., например, Ansel, *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, четвертое издание, 1985, 126).

Как правило, предусмотрены терапевтически эффективные дозы. Количество вводимого выбранного для лечения заболевания или состояния растворимого PH20 может быть определено стандартными клиническими методами. Кроме того, для выявления оптимальных диапазонов дозировки могут быть использованы *in vitro* анализы и моделирование на животных. Точная дозировка, которая может быть



определена эмпирически, может зависеть от конкретного фермента, пути введения, подвергнутого лечению заболевания и тяжести заболевания.

Таким образом, следует понимать, что точная дозировка и продолжительность лечения зависят от подвергнутого лечению заболевания, и может быть определена эмпирически с использованием известных алгоритмов или путем экстраполяции *in vivo* или *in vitro* тестовых данных. Следует отметить, что концентрация и дозировка также могут меняться в зависимости от тяжести подвергнутого лечению состояния. Необходимо подчеркнуть, что для любого конкретного субъекта с течением времени должен быть персонально скорректирован режим введения в зависимости от индивидуальных потребностей и профессионального суждения лица, вводящего композицию или контролирующего введение композиции, также необходимо подчеркнуть, что указанные здесь диапазоны концентраций приведены только в качестве примеров и не предназначены для ограничения использования содержащих их композиций или комбинаций. Композиции можно вводить каждый час, каждый день, каждую неделю, каждый месяц, каждый год или один раз. Как правило, режим дозирования выбирают таким образом, чтобы уменьшить токсичность. Следует отметить, что решение о том, как и когда следует прекратить, прервать или изменить терапию в сторону снижения дозы по причине токсичности или дисфункции костного мозга, печени, почек или другого органа, лежит в компетенции лечащего врача. Также лечащий врач решает, как и когда, напротив, следует изменить лечение в сторону более высоких доз, если клинический ответ не является адекватным (за исключением токсичных побочных эффектов).

Фармацевтически приемлемые композиции получают в соответствии с требованиями регулирующего органа или другого органа в соответствии с общепризнанной фармакопеей для использования на животных и для человека. Композиции могут иметь форму раствора, суспензии, эмульсии, таблеток, пилюль, капсул, порошка и композиции с замедленным высвобождением. Композиция может быть включена в суппозитории с традиционными связующими и носителями, такими как триглицериды. Композиции для орального введения могут включать стандартные носители, такие как маннитол, лактоза, крахмал, стеарат магния, натрия сахарин, целлюлоза, карбонат магния фармацевтической чистоты и другие подобные вещества. Композиция должна соответствовать способу введения.

Фармацевтические композиции могут включать в себя вспомогательные вещества, такие как разбавитель, адъювант, наполнитель или переносчик, с

которыми вводят растворимый PH20. Примеры подходящих фармацевтических носителей описаны в "Remington's Pharmaceutical Sciences" E. W. Martin. Такие композиции содержат терапевтически эффективное количество соединения, как правило, в очищенном или частично очищенном виде вместе с подходящим количеством носителя, обеспечивающим форму лекарственного средства для надлежащего введения пациенту. Такие фармацевтические носители могут представлять собой стерильную жидкость, такую как вода и масло, в том числе масло нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такое как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло и кунжутное масло. Вода является типичным носителем, если фармацевтическую композицию вводят внутривенно. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также могут быть использованы в качестве жидкого носителя, особенно в качестве раствора для инъекций. Композиции наряду с активным ингредиентом могут содержать наполняющий агент, такой как лактоза, сахароза, дикальция фосфат или карбоксиметилцеллюлоза; смазку, такую как стеарат магния, стеарат кальция и тальк, и связующее, такое как крахмал, натуральные смолы, такие как камедь, гуммиарабик, желатин, глюкоза, патока, поливинилпирролидон, целлюлоза и ее производные, повидон, кроссповидоны и другие подобные связующие, известные специалистам в данной области. Подходящие фармацевтические наполнители представляют собой крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рисовую муку, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропиленгликоль, воду и этанол. Композиция, по желанию, также может содержать небольшие количества смачивателя или эмульгатора, или буферных агентов, например, ацетата, цитрата натрия, производных циклодекстрина, сорбитанмонолаурата, ацетата натрия, триэтаноламина, триэтаноламинолеата и других подобных агентов.

Фармацевтические терапевтически активные соединения и их производные, как правило, включены в композиции и вводятся в единичных дозированных формах или множественных дозированных формах. Например, соединения могут быть включены в таблетки, капсулы, пилюли, порошки, гранулы, стерильные парентеральные растворы или суспензии, пероральные растворы или суспензии и водно-масляные эмульсии, содержащие подходящие количества соединений или их фармацевтически приемлемых производных. Каждая единичная доза содержит определенное количество терапевтически активного соединения, достаточное для получения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым

фармацевтическим носителем, переносчиком или растворителем. Примеры единичных дозированных форм включают ампулы и шприцы, и индивидуально упакованные таблетки или капсулы. Единичные дозированные формы могут быть введены частями, или может быть введено несколько единичных дозированных форм одновременно. Множественная дозированная форма представляет собой множество одинаковых единичных дозированных форм, упакованных в один контейнер для введения отдельными единичными дозированными формами. Примеры множественных дозированных форм включают флаконы, картриджи, бутылки таблеток или капсул или бутылки с пинтами или галлонами жидкости. Таким образом, множественные дозированные формы представляют собой множество единичных дозированных форм, которые не разделены в упаковке. Как правило, получают дозированные формы и композиции, содержащие активный ингредиент в диапазоне от 0,005% до 100% по отношению к нетоксичному носителю.

Предусмотренные в данном изобретении композиции обычно составляют для подкожного введения, хотя предусмотрены и другие пути введения, например, любой путь, известный специалистам в данной области, включая внутримышечное, внутрибрюшинное, внутривенное, внутрикожное введение, введение внутрь опухоли, внутрибрюшинное, эпидуральное, вагинальное, ректальное, местное, отикальное, трансдермальное введение или введение другим путем. Композиции, подходящие для таких путей введения, известны специалистам в данной области. Введение может быть локальным, местным или системным в зависимости от подвергающейся лечению области. Локальное введение в область, нуждающуюся в лечении, можно осуществить, например, местной инфузией во время операции, местным нанесением, например, в сочетании с повязкой после операции, путем инъекции с помощью катетера, с помощью свечи или с помощью имплантатов. Композиции также могут быть введены с другими биологически активными веществами последовательно, с перерывом или в одной композиции.

Наиболее подходящий путь введения в каждом конкретном случае зависит от ряда факторов, таких как характер заболевания, толерантность субъекта к конкретному пути введения, тяжесть заболевания и особенности используемой композиции. Как правило, предусмотренные здесь композиции вводят парентерально. В некоторых примерах композиции растворимого РН20 вводят так, что он достигает интерстиции кожи или ткани, таким образом, деградируя интерстициальное пространство для последующей доставки терапевтического

агента. Таким образом, в некоторых примерах предусмотрено прямое введение под кожу, например, методами подкожного введения. Так, в одном примере, местное введение может быть достигнуто инъекцией, например, из шприца или другого изделия, содержащего инъекционное устройство, такое как иглу. В другом примере, местное введение может быть достигнуто инфузией, которая может осуществляться насосом или другим подобным устройством. Также предусмотрены другие режимы введения. Фармацевтические композиции могут быть составлены в соответствующих дозированных формах для каждого пути введения.

Для уменьшения процессов деградации растворимых полипептидов PH20, например, протеолитической деградации и иммунного воздействия через антигенный и иммуногенный ответ, могут быть использованы некоторые методы введения. Примером таких методов является местное введение в подвергающуюся лечению область. Считается, что пегилирование лекарственного средства повышает устойчивость к протеолизу, увеличивает период полураспада в сыворотке и снижает антигенность и иммуногенность. Примеры методов пегилирования известны в уровне техники (см., например, Lu и Felix, *Int. J. Peptide Protein Res.*, 43: 127-138, 1994; Lu и Felix, *Peptide Res.*, 6: 142-6, 1993; Felix и др., *Int. J. Peptide Res.*, 46 : 253-64, 1995; Benhar и др., *J. Biol. Chem.*, 269: 13398-404, 1994; Brumeanu и др., *J Immunol.*, 154: 3088-95, 1995; см. также Caliceti и др. (2003) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55(10):1261-77 и Molineux (2003) *Pharmacotherapy* 23 (8 часть 2): с. 3-8). Пегилирование также может быть использовано для доставки молекул нуклеиновой кислоты *in vivo*. Например, пегилирование аденовируса может увеличить стабильность и улучшить перенос генов (см., например, Cheng и др., (2003) *Pharm. Res.* 20 (9): 1444-51).

### **1. Растворы и эмульсии для инъекций**

В настоящем документе предусмотрено парентеральное введение, как правило, в виде инъекций или инфузий, проводимое подкожно, внутримышечно, внутривенно или трансдермально. Препараты для инъекций могут быть произведены в обычной форме, в виде жидких растворов или суспензий, твердых форм, предназначенных для растворения или суспендирования в жидкости до инъекций, или в виде эмульсий. Подходящими формообразующими являются, например, вода, физиологический раствор, глюкоза, глицерин или этанол. Фармацевтические композиции могут содержать незначительные количества других нетоксичных вспомогательных веществ, таких как смачиватели или эмульгаторы, буферизующие агенты, стабилизаторы, усилители растворимости и другие подобные агенты,

например, ацетат натрия, фосфат натрия, сорбитанмонолаурат, триэтаноламинолеат и циклодекстрины. Также в данном изобретении предусмотрена имплантация систем с медленным высвобождением или пролонгированным высвобождением, позволяющих поддерживать постоянный уровень дозирования (см., например, патент США № 3710795). Содержание активного вещества в таких парентеральных композициях во многом зависит от их природы, а также от активности соединения и потребностей субъекта.

Инъекционные композиции предназначены для местного и системного введения. Для целей настоящего изобретения местное введение требуется для прямого введения в область разрушенной интерстиции. Препараты для парентерального введения включают стерильные готовые для инъекций растворы, стерильные сухие растворимые продукты, такие как лиофилизированные порошки, которые необходимо смешать с растворителем непосредственно перед использованием, включая гиподермальные таблетки, стерильные готовые для инъекций суспензии, стерильные сухие нерастворимые продукты, которые необходимо смешать со средой непосредственно перед использованием, и стерильные эмульсии. Растворы могут быть водными или неводными. При внутривенном введении подходящие носители включают физиологический раствор или фосфатно-солевой буфер (PBS) и растворы, содержащие сгущающие и солюбилизирующие агенты, такие как глюкозу, полиэтиленгликоль и полипропиленгликоль, и их смеси.

Фармацевтически приемлемые носители, используемые в препаратах для парентерального введения, включают водные носители, неводные носители, антимикробные агенты, изотонические агенты, буферы, антиоксиданты, местные анестетики, суспендирующие и диспергирующие агенты, эмульгаторы, изолирующие агенты или хелатообразователи и другие фармацевтически приемлемые вещества. Примеры водных сред включают раствор хлористого натрия для инъекций, раствор Рингера для инъекций, изотонический раствор декстрозы для инъекции, стерильную воду для инъекций, раствор Рингера с декстрозой и лактатом для инъекций. Неводные парентеральные среды включают жирные масла растительного происхождения, хлопковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло и арахисовое масло. К препаратам для парентерального введения, упакованным в контейнеры с множественными дозированными формами, могут быть добавлены противомикробные препараты в бактериостатических или фунгистатических концентрациях, включая фенолы или крезолы, ртутные

консерванты, бензиловый спирт, хлорбутанол, метиловый и пропиловый эфиры п-оксибензойной кислоты, тимеросал, хлорид бензалкония и хлорид бензетония. Изотонические агенты включают хлорид натрия и декстрозу. Буферы включают фосфатный и цитратный буферы. Антиоксиданты включают бисульфат натрия. Местные анестетики включают гидрохлорид прокаина. Суспендирующие и диспергирующие агенты включают натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозу и поливинилпирролидон. Эмульгаторы включают полисорбат 80 (Твин-80). Изолирующие агенты или хелаторы ионов металлов включают ЭДТА. Фармацевтические носители также включают этиловый спирт, полиэтиленгликоль и пропиленгликоль для смешиваемых с водой сред и гидроксид натрия, соляную кислоту, лимонную кислоту или молочную кислоту для доведения pH.

Концентрацию фармацевтически активного соединения подбирают таким образом, что инъекция или инфузия обеспечивает эффективное количество активного соединения для получения желаемого фармакологического эффекта. Точная доза зависит от возраста, веса и состояния пациента или животного, как известно в уровне техники. Единичные дозированные формы препаратов для парентерального введения могут быть упакованы, например, в ампулы, картриджи, флаконы или шприцы с иглой. Объем жидкого раствора или восстановленного из порошка препарата, содержащего фармацевтически активное соединение, зависит от подвергающегося лечению заболевания и от конкретного упакованного изделия. Все препараты для парентерального введения должны быть стерильными, как известно и практикуется в уровне техники.

В одном примере фармацевтический препарат может быть в жидком виде, например, в виде раствора, сиропа или суспензии. Если препарат представлен в жидкой форме, то он может быть предусмотрен в виде концентрированного препарата для разведения до терапевтически эффективной концентрации перед использованием. Такие жидкие препараты могут быть получены обычными способами с применением фармацевтически приемлемых добавок, таких как суспендирующие агенты (например, сорбитольный сироп, производные целлюлозы или гидрогенизированные пищевые жиры); эмульгаторы (например, лецитин или гуммиарабик); неводные среды (например, миндальное масло, эфиры жирных кислот или фракционированные растительные масла) и консерванты (например, метил- или пропил-п-гидроксибензоат или сорбиновая кислота). В другом примере фармацевтические препараты могут быть предусмотрены в лиофилизированной

форме для восстановления водой или другой подходящей средой перед использованием.

### **Лиофилизированные порошки**

Изобретение включает лиофилизированные порошки, которые могут быть восстановлены для введения в виде растворов, эмульсий и других смесей. Они также могут быть восстановлены и представлены в твердой форме или в форме геля.

Стерильный лиофилизированный порошок готовят растворением неактивного фермента в буферном растворе. Буферный раствор может содержать вспомогательное вещество, которое улучшает стабильность или другие фармакологические свойства порошка или восстановленного раствора, приготовленного из порошка. После стерильной фильтрации раствора следует лиофилизация при стандартных условиях, известных специалистам в данной области, которая приводит к желаемой композиции. Лиофилизированный порошок готовят растворением наполнителя, такого как декстроза, сорбитол, фруктоза, кукурузный сироп, ксилит, глицерин, глюкоза, сахароза или другой подходящий агент в подходящем буфере, таком как цитратный, натрий- или калий-фосфатный или другой подобный буфер, известный специалистам в данной области. Затем в полученную смесь добавляют выбранный фермент, смесь перемешивают до полного его растворения. Полученную смесь стерильно фильтруют или обрабатывают для удаления твердых частиц и для обеспечения стерильности и распределяют по флаконам для лиофилизации. Каждый флакон будет содержать одну дозу или несколько доз соединения. Лиофилизированный порошок может храниться в надлежащих условиях, например, приблизительно в интервале от 4°C до комнатной температуры. Восстановление этого лиофилизированного порошка буфером приводит к композиции для парентерального введения.

### **2. Местное введение**

Смеси для местного введения готовят, как описано для локального и системного введения. Полученная смесь может представлять собой раствор, суспензию, эмульсию или тому подобное, и может быть представлена в форме крема, геля, мази, эмульсии, раствора, эликсира, лосьона, суспензии, настойки, пасты, пены, аэрозоля, раствора для промывания, спрея, суппозитория, бинтов, пластырей или в виде любых других подходящих для местного применения композиций.

Соединения или их фармацевтически приемлемые производные могут быть введены в композиции в форме аэрозолей для местного применения, например,

путем ингаляции (см., например, патенты США №№ 4,044,126, 4,414,209 и 4364923, в которых описаны аэрозоли для доставки стероидов, эффективных при лечении воспалительных заболеваний, в частности, астмы). Указанные композиции для введения в дыхательные пути могут быть в форме аэрозоля или раствора для распылителя, или в форме мелкодисперсного порошка для инсуффляции, отдельно или в сочетании с инертным носителем, таким как лактоза. В таком случае частицы композиции, как правило, имеют диаметр менее 50 микрон или менее 10 микрон.

Соединения могут быть введены в композиции для локального или местного применения, например, для местного нанесения на кожу и слизистые оболочки, например, слизистые оболочки глаз, в форме гелей, кремов и лосьонов, а также для введения в глаза или для интрацестерального, или интраспинального введения. Местное введение подразумевает трансдермальную доставку, а также введение в глаза или слизистые оболочки, а также ингаляцию. Также растворы активного соединения отдельно или в комбинации с другими фармацевтически приемлемыми наполнителями могут быть введены назально.

Предусмотрены композиции, пригодные для трансдермального введения. Они могут быть предусмотрены в любой удобной форме, например, в форме отдельных пластырей, поддерживающих тесный контакт с эпидермисом реципиента в течение длительного периода времени. Такие пластыри содержат действующее вещество необязательно в буферном водном растворе с концентрацией активного соединения, например, от 0,1 до 0,2 М. Пригодные для трансдермального введения композиции также могут быть доставлены с помощью лекарственного электрофореза (см., например, *Pharmaceutical Research* 3(6): 318 (1986)), для которого, как правило, композиции представляют собой необязательно буферные водные растворы активного соединения.

### **3. Композиции для других способов введения**

В зависимости от подвергающегося лечению состояния в данном изобретении также предусмотрены другие пути введения, такие как местное введение, трансдермальное введение с помощью пластырей, оральное и ректальное введение. Например, фармацевтические дозированные формы для ректального введения представляют собой ректальные суппозитории, капсулы и таблетки для системного эффекта. Ректальные суппозитории представляют собой твердые объекты для введения в прямую кишку, которые плавятся или размягчаются при температуре тела, высвобождая один или несколько фармакологически или терапевтически активных ингредиентов. Фармацевтически приемлемые вещества, используемые в



ректальных суппозиториях, включают основу или носитель и агенты, повышающие температуру плавления. Примеры основ включают масло какао (масло теобромы), глицерин-желатин, карбовакс (полиоксиэтиленгликоль) и подходящие смеси моно-, ди- и триглицеридов жирных кислот. Могут быть использованы комбинации различных основ. Агенты, повышающие температуру плавления суппозиториях, включают спермацет и воск. Ректальные суппозитории могут быть изготовлены методом сжатия или путем формовки. Типичный вес ректальных свечей составляет от 2 до 3 грамм. Таблетки и капсулы для ректального введения изготавливают с применением тех же фармацевтически приемлемых веществ и теми же методами, как и композиции для орального введения.

Композиции для ректального введения могут быть представлены в виде единичных дозированных суппозиториях. Они могут быть получены путем смешения активного соединения с одним или более обычными твердыми носителями, например, маслом какао, с последующей формовкой полученной смеси.

Для перорального введения фармацевтические композиции могут быть представлены в форме, например, таблеток или капсул, полученных обычными методами с фармацевтически приемлемыми формообразующими, такими как связующие вещества (например, прежелатинизированный кукурузный крахмал, поливинилпирролидон или гидроксипропилметилцеллюлоза); наполнители (например, лактоза, микрокристаллическая целлюлоза или гидрофосфат кальция), смазывающие агенты (например, стеарат магния, тальк или кремнезем); разрыхлители (например, картофельный крахмал или крахмал гликолат натрия) или увлажняющие агенты (например, лаурилсульфат натрия). Таблетки могут быть покрыты оболочкой, что хорошо известно в уровне техники.

Композиции, пригодные для буккального (под язык) введения, включают, например, таблетки, содержащие активное соединение в ароматизированной основе, представляющей собой, как правило, сахарозу, гуммиарабик или адрагентовую камедь, и пастилки, содержащие соединение в инертной основе, такой как желатин и глицерин или сахароза и гуммиарабик.

Фармацевтические композиции также могут быть введены с помощью устройств с регулируемым высвобождением и/или доставкой лекарственного средства (см., например, патенты США №№ 3,536,809; 3,598,123; 3,630,200; 3,845,770; 3,847,770; 3,916,899; 4,008,719; 4,687,610; 4,769,027; 5,059,595; 5,073,543; 5,120,548; 5,354,566; 5,591,767; 5,639,476; 5,674,533 и 5,733,566).

Для введения выбранных растворимых полипептидов РН20 известны в уровне техники и могут быть использованы различными способами доставки, включая, но не ограничиваясь липосомами с инкапсулированным препаратом, микрочастицами, микрокапсулами, рекомбинантными клетками, способными экспрессировать соединения, опосредованным рецепторами эндоцитозом и доставкой молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих выбранные растворимые полипептиды РН20, например, доставкой с помощью ретровирусных систем.

Таким образом, в некоторых вариантах для введения растворимых полипептидов РН20 могут быть использованы липосомы и/или наночастицы. Липосомы образуются из диспергированных в водной среде фосфолипидов, самопроизвольно образующих многослойные концентрические бислойные пузырьки (также называемые многослойными везикулами (MLV)). Как правило, MLV имеют диаметр от 25 нм до 4 мкм. Обработка MLV ультразвуком приводит к образованию мелких однослойных везикул (SUV) с диаметром в диапазоне от 200 до 500 ангстрем, содержащих в ядре водный раствор.

В зависимости от молярного соотношения липидов и воды фосфолипиды при диспергировании в воде могут образовывать различные структуры, отличные от липосом. При низком соотношении формируются липосомы. Физические характеристики липосом зависят от pH, ионной силы и присутствия двухвалентных катионов. Липосомы характеризуются низкой проницаемостью для ионов и полярных веществ, но при повышенной температуре происходит фазовый переход, который заметно изменяет их проницаемость. Фазовый переход связан с изменением структуры из плотно упакованной, упорядоченной, известной как гелеобразное состояние, в неплотно упакованную, менее упорядоченную структуру, известную как жидкое состояние. Это происходит при характерной температуре фазового перехода и приводит к увеличению проницаемости для ионов, сахаров и лекарственных средств.

Липосомы взаимодействуют с клетками с помощью различных механизмов: эндоцитоза фагоцитирующими клетками ретикулоэндотелиальной системы, такими как макрофаги и нейтрофилы; адсорбции на поверхности клеток за счет неспецифических слабых гидрофобных или электростатических сил, либо специфических взаимодействий с компонентами клеточной поверхности; слияния с плазматической клеточной мембраной путем включения липидного бислоя липосомы в плазматическую мембрану с одновременным высвобождением содержимого липосомы в цитоплазму; а также путем передачи липосомных липидов

клеточной или субклеточной мембране без какого-либо участия содержимого липосомы. Изменение состава липосомы может изменить механизм взаимодействия, при этом следует понимать, что одновременно могут реализоваться более одного механизма. Обычно, нанокапсулы могут стабильно и воспроизводимо удерживать соединения. Чтобы избежать побочных эффектов, связанных с перегрузкой клеток полимером, такие ультрадисперсные частицы (размером приблизительно 0,1 мкм) должны быть изготовлены из деградируемых *in vivo* полимеров. Для целей настоящего изобретения подходят биоразлагаемые полиалкил-цианоакрилатные наночастицы, которые отвечают этим требованиям, причем такие частицы могут быть легко изготовлены.

#### 4. Способы применения и дозы

Растворимые полипептиды PH20, в том числе esPH20 по настоящему документу могут быть включены в фармацевтические композиции для введения одной дозой или несколькими дозами. Выбранный деградирующий гиалуронан фермент содержится в композициях в количестве, достаточном для оказания терапевтического эффекта в отсутствии нежелательных побочных эффектов для пациента. Терапевтически эффективная концентрация может быть определена эмпирически путем тестирования полипептидов в известных *in vitro* и *in vivo* системах, например, с помощью анализов, предусмотренных в данном изобретении или известных в уровне техники (см., например, Taliani и др., (1996) *Anal. Biochem.*, 240: 60-67; Filocamo и др., (1997) *J Virology*, 71: 1417-1427; Sudo и др., (1996) *Antiviral Res.* 32: 9-18; Buffard и др., (1995) *Virology*, 209:52-59; Bianchi и др., (1996) *Anal. Biochem*, 237: 239-244; Hamatake и др., (1996) *Intervirology* 39:249-258; Steinkuhler и др., (1998) *Biochem*, 37: 8899-8905; D'Souza и др., (1995) *J Gen. Virol.*, 76:1729-1736; Takeshita и др., (1997) *Anal. Biochem.*, 247:242-246; см. также, например, Shimizu и др., (1994) *J. Virol.* 68:8406-8408; Mizutani и др., (1996) *J. Virol.* 70:7219-7223; Mizutani и др., (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 227:822-826; Lu и др., (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci (USA)*, 93:1412-1417; Hahm и др., (1996) *Virology*, 226:318-326; Ito и др., (1996) *J. Gen. Virol.*, 77:1043-1054; Mizutani и др., (1995) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 212: 906-911; Cho и др., (1997) *J. Virol. Meth.* 65:201-207), а затем экстраполирована на дозу для человека.

Как правило, терапевтически эффективная доза растворимого PH20 в виде стабилизированного раствора, суспензии или в лиофилизированной форме составляет приблизительно от 10 единиц (U) до 500000 единиц, от 100 единиц до 100000 единиц, от 500 единиц до 50000 единиц, от 1000 единиц до 10000 единиц, от

5000 единиц до 7500 единиц, от 5000 единиц до 50000 единиц или от 1000 единиц до 10000 единиц, как правило, от 1000 до 50000 единиц. Композиции могут быть представлены в виде единичных дозированных форм, таких как, например, ампулы, шприцы и индивидуально упакованные таблетки или капсулы. Диспергирующий агент может быть введен отдельно или с другим фармакологически эффективным агентом или терапевтическим агентом в общем объеме 0,1 - 100 мл, 1 - 50 мл, 10 - 50 мл, 10 - 30 мл, 1 - 20 мл или 1 - 10 мл, как правило, 10 - 50 мл.

Например, растворимые PH20, в том числе esPH20, можно вводить подкожно в количестве приблизительно 10 U, 20 U, 30 U, 40 U, 50 U, 100 U, 150 U, 200 U, 250 U, 300 U, 350 U, 400 U, 450 U, 500 U, 600 U, 700 U, 800 U, 900 U, 1000 U, 2000 U, 3000 U, 4000 U, 5000 U или более. В некоторых примерах дозы могут быть представлены в виде отношения количества растворимого PH20 к количеству вводимого терапевтического агента. Например, растворимый полипептид PH20 может быть введен с терапевтическим агентом при отношении от 1 U гиалуронидазы на 1 U терапевтического агента (1:1) до 50 : 1 или более, например, при отношении приблизительно 1 : 1, 2 : 1, 3 : 1, 4 : 1, 5 : 1, 6 : 1, 7 : 1, 8 : 1, 9 : 1, 10 : 1, 11 : 1, 12 : 1, 13 : 1, 14 : 1, 15 : 1, 20 : 1, 25 : 1, 30 : 1, 35 : 1, 40 : 1, 45 : 1, 50 : 1 и более. Как правило, объемы инъекций или инфузий предусмотренного в данном изобретении растворимого PH20 составляют, по меньшей, приблизительно 0,01 мл, 0,05 мл, 0,1 мл, 0,2 мл, 0,3 мл, 0,4 мл, 0,5 мл, 1 мл, 2 мл, 3 мл, 4 мл, 5 мл, 6 мл, 7 мл, 8 мл, 9 мл, 10 мл, 20 мл, 30 мл, 40 мл, 50 мл и более. Для непосредственного применения или для разведения до эффективной концентрации перед применением растворимые PH20 могут быть представлены в виде концентрированного раствора с удельной активностью приблизительно 100 ед/мл, 150 ед/мл, 200 ед/мл, 300 ед/мл, 400 ед/мл, 500 ед/мл, 600 ед/мл, 800 ед/мл или 1000 ед/мл, или могут быть представлена в виде более концентрированного раствора, например, с удельной активностью приблизительно 2000 ед/мл, 3000 ед/мл, 4000 ед/мл, 5000 ед/мл, 8000 ед/мл, 10000 ед/мл или 20000 ед/мл. Растворимые PH20 могут быть предусмотрены в виде жидких или лиофилизированных композиций.

### **5. Упаковка, изделия и наборы**

Растворимые полипептиды PH20, в том числе esPH20, или нуклеиновые кислоты, кодирующие такие полипептиды, их производные или варианты могут быть упакованы в виде изделий, содержащих упаковочный материал, эффективную для лечения заболевания или нарушения фармацевтическую композицию и этикетку, которая указывает, что растворимый PH20 или нуклеиновая кислота могут быть

использованы для лечения заболевания или нарушения. Комбинации выбранной растворимой гиалуронидазы PH20 или ее производных или вариантов и терапевтического агента также могут быть упакованы в виде изделий.

Предусмотренные в данном изобретении изделия содержат упаковочный материал. Упаковочные материалы, используемые для упаковки фармацевтических препаратов, хорошо известны специалистам в данной области. См., например, патенты США №№ 5323907, 5052558 и 5033352, каждый из которых включен здесь в качестве ссылки в полном объеме. Примеры фармацевтических упаковочных материалов включают, но не ограничиваются блистерной упаковкой, бутылками, тубиками, ингаляторами, насосами, пакетами, флаконами, контейнерами, шприцами и любым упаковочным материалом, подходящим для выбранной композиции и способа введения и лечения. Изделия также могут включать иглу или другое инъекционное приспособление для местного введения (например, подкожного введения) инъекцией. В настоящем документе предусмотрен широкий спектр комбинаций соединений и композиций, например комбинаций растворимой PH20, такой как esPH20, с терапевтическим агентом, предназначенным для лечения заболевания или нарушения. Выбор упаковки зависит от выбранной растворимой PH20 и/или терапевтического агента и от необходимости упаковать композиции вместе или по отдельности. В одном из примеров растворимая PH20 может быть упакована в виде смеси с терапевтическим агентом. В другом примере компоненты могут быть упакованы в виде отдельных композиций.

Выбранный растворимый полипептид PH20, такой как полипептид esPH20, терапевтический агент и/или изготовленные из них изделия также могут быть предусмотрены в виде наборов. Наборы могут включать описанные здесь фармацевтические композиции и приспособления для введения, представленные в виде изделий. Например, композиции растворимых полипептидов PH20 могут быть оснащены приспособлением для введения, таким как шприц, ингалятор, емкость для дозирования, пипетка или аппликатор. Композиции могут содержаться в устройстве для введения или могут быть предоставлены отдельно для перенесения в устройство для введения позже. Набор может, при необходимости, включать инструкции для применения, в которых приведены дозы, режимы дозирования и инструкции для введения. Наборы также могут включать описанные здесь фармацевтические композиции и приспособление для диагностики. Например, такие наборы могут включать приспособление для измерения концентрации, количества или активности выбранного фермента.

## **G. Анализы**

Растворимые полипептиды PH20 по настоящему документу, в том числе полипептиды esPH20, являются растворимыми и сохраняют ферментативную гиалуронидазную активность. N-гликозилированные или частично N-гликозилированные полипептиды PH20 по настоящему документу сохраняют гиалуронидазную ферментативную активность. Активность предусмотренных в данном изобретении PH20 составляет приблизительно 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% и более от активности соответствующих PH20, которые не укорочены с С-конца или полностью N-гликозилированы. Активность растворимых гиалуронидаз PH20, таких как esPH20, можно оценить с помощью методов, хорошо известных в уровне техники. Указанные методы включают, например, анализ мутности и микротитровальный с применением биотинилированной гиалуроновой кислоты. Может быть измерена гиалуронидазная активность в кондиционированной среде, супернатанте или гиалуронидазная активность очищенного белка. Растворимость белка также может быть измерена, например, с помощью анализа с Тритон® X-114. Во всех анализах активность или растворимость растворимого PH20 можно сравнить с характеристиками контрольного образца, например, не усеченного с С-конца полноразмерного полипептида PH20.

### **1. Гиалуронидазная активность**

Активность растворимого полипептида PH20 можно оценить с помощью хорошо известных в данной области методов. Например, в анализе на гиалуронидазную активность Фармакопеи США (USP) XXII гиалуронидазную активность определяют косвенно путем измерения количества недеградированной гиалуроновой кислоты или гиалуронана (ГК), оставшегося после реакции фермента с ГК в течение 30 мин при 37°C (USP-NF XXII XVII (1990) 644-645 United States Pharmacopeia Convention, Inc, Rockville, Мэриленд). Для определения активности препарата любой гиалуронидазы в единицах активности может быть использован стандарт сравнения гиалуронидазы (USP) или стандартный раствор гиалуронидазы Национального формуляра (NF).

В одном из примеров активность измеряют с помощью анализа мутности, как описано в Примере 12. Метод основан на образовании нерастворимого осадка при связывании гиалуроновой кислоты с сывороточным альбумином. Активность измеряют с помощью инкубации гиалуронидазы с гиалуронатом натрия (гиалуроновой кислотой) в течение определенного периода

времени (например, 10 минут) и последующего осаждения нерасщепленного гиалуроната натрия при добавлении подкисленного сывороточного альбумина. Мутность образца измеряют при 640 нм после дополнительного периода инкубации. Снижение мутности в результате активности гиалуронидазы по отношению к гиалуронату натрия является показателем ферментативной активности гиалуронидазы.

В другом примере активность гиалуронидазы измеряют с помощью микротитрования, при котором оставшуюся биотинилированную гиалуроновую кислоту определяют после инкубации с гиалуронидазой (см., например, Frost и Stern (1997) *Anal. Biochem.* 251:263-269, опубликованную заявку США № 20050260186). В Примере 4 гиалуронидазную активность усеченной человеческой гиалуронидазы RH20 определяют с использованием биотинилированной гиалуроновой кислоты. Свободные карбоксильные группы глюкуроновых остатков гиалуроновой кислоты биотинилированы, и биотинилированная гиалуроновая кислота ковалентно связана с планшетом. После инкубации с гиалуронидазой остаточную биотинилированную гиалуроновую кислоту определяют с помощью авидин-пероксидазной реакции и ее количество сравнивают с количеством гиалуроновой кислоты после реакции со стандартом гиалуронидазы известной активности. Так как субстрат ковалентно связан с планшетом, таких артефактов, как pH-зависимое вытеснение биотинилированного субстрата, не происходит. Чувствительность метода позволяет быстро измерять гиалуронидазную активность культивируемых клеток и биологических образцов с вариацией между анализами менее 10%.

Другие анализы для измерения активности гиалуронидазы также известны в уровне техники и могут быть использованы в методах по настоящему изобретению (см., например, Delpech и др., (1995) *Anal. Biochem.* 229:35-41; Takahashi и др., (2003) *Anal. Biochem.* 322:257-263).

Многие анализы на гиалуронидазную активность основаны на образовании новых восстанавливающих N-ацетиламиновых групп (Bonner и Cantey, *Clin. Chim. Acta* 13: 746-752, 1966), потере вязкости (De Salegui и др., *Arch. Biochem. Biophys.* 121: 548-554, 1967) или мутности (Dorfman и Ott, *J. Biol. Chem.* 172: 367, 1948). При наличии очищенного субстрата все указанные способы подходят для определения наличия или отсутствия эндогликозидазной активности.

Существенно очищенные гликозаминогликановые субстраты также могут быть использованы в анализе на изменение подвижности в геле. Для определения эндогликозидазной активности гликозаминогликаны смешивают с рекомбинантным

РН20, таким как растворимый РН20, что приводит к сдвигу подвижности субстрата внутри геля. Примеры таких субстратов включают, но не ограничиваются хондроитин-4-сульфатом и хондроитин-6-сульфатом, дерматансульфатом и гепарансульфатом, которые могут быть получены от Sigma Chemical. Гиалуроновая кислота из пуповины человека может быть получена от ICN. Например, каждый субстрат для исследования может быть разбавлен до концентрации приблизительно 0,1 мг/мл в буфере с pH 3,5 – 7,5. Для анализа, например, приблизительно 10 мкл образца очищенного растворимого РН20 или кондиционированной среды от экспрессирующих РН20 клеток можно смешать с приблизительно 90 мкл субстрата в нужном буфере и инкубировать в течение 3 часов при 37°C. После инкубации образцы нейтрализуют буфером для образцов (Трис-ЭДТА, pH 8,0, бромфеноловый синий и глицерин), а затем исследуют с помощью электрофореза. Гликозаминогликаны могут быть обнаружены любым методом, известным в уровне техники, например, гликозаминогликаны можно обнаружить с помощью окрашивания гелей 0,5% альциановым синим в 3% ледяной уксусной кислоте в течение ночи с последующим отмыванием в 7% ледяной уксусной кислоте. Деградацию гиалуронана определяют путем сравнения подвижности субстрата в присутствии и в отсутствие фермента.

Гиалуронидазную активность можно определить также с помощью гелевой зимографии в присутствии субстрата (Guentenhoner и др., 1992, *Matrix* 388-396). В данном анализе образец наносят на гель для SDS-PAGE, содержащий гиалуроновую кислоту, и белки в образце разделяют электрофорезом. Гель инкубируют в буфере для проведения ферментативной реакции, а затем окрашивают для выявления гиалуроновой кислоты в геле. Гиалуронидазная активность визуализируется как очищенная от субстрата зона геля.

Также может быть оценена способность растворимого полипептида РН20 действовать в качестве агента для распространения или диффузии. Например, краситель трипановый синий можно вводить мышам без волосяного покрова под кожу латеральной поверхности тела с каждой стороны с РН20 или без него. Затем для определения способности деградирующего гиалуронан фермента действовать в качестве агента для распространения может быть измерена область распространения красителя, например, с помощью микроциркуля (патент США № 20060104968). Эффект совместного введения гиалуронидазы с другим агентом, таким как терапевтический агент, на фармакокинетические и фармакодинамические свойства



агента также может быть оценен *in vivo* на моделях на животных и/или человеческих субъектах, например, в серии клинических испытаний.

Функциональную активность растворимого полипептида RH20, такого как esRH20, можно сравнить и/или нормализовать на активность стандарта сравнения с использованием любого из этих методов. Это может быть сделано для определения функционально эквивалентного количества растворимого полипептида RH20. Например, способность растворимого RH20 действовать в качестве агента для распространения или диффузии может быть оценена путем введения его в кожу на боку мыши с трипановым синим, затем может быть определено количество, необходимое для достижения той же диффузии, как, например, при введении красителя со 100 единицами Стандарта сравнения гиалуронидазы. Количество растворимого полипептида RH20, таким образом, функционально эквивалентно 100 единицам гиалуронидазы.

## **2. Растворимость**

Растворимость гиалуронидазы может быть оценена любым известным специалисту в данной области методом. Одним из методов определения растворимости является анализ на распределение в растворе детергента. Например, растворимый полипептид RH20 можно отличить, например, по его свойству переходить в водную фазу раствора Тритон® X-114 при температуре 37°C (Bordier и др., (1981) *J. Biol. Chem.*, 256: 1604-1607). Например, растворимость описанных в данном изобретении полипептидов RH20 оценивают, как описано в Примере 4. Заякоренные в мембране гиалуронидазы, такие как заякоренные липидами гиалуронидазы, в том числе GPI-заякоренные гиалуронидазы, переходят в богатую детергентом фазу, но переходят в бедную детергентом или водную фазу после обработки фосфолипазой C. Фосфолипаза C (PLC) является ферментом, который расщепляет фосфо-глицерольную связь в GPI-заякоренных белках. Обработка PLC вызовет высвобождение GPI-связанных белков от внешней мембраны клетки.

Другим методом оценки растворимости является определение наличия у полипептида RH20 GPI-якоря. Полипептид RH20 с GPI-якорем связан с клеточной мембраной и, следовательно, не является растворимым. Чтобы определить, является ли полипептид RH20 GPI-заякоренным, можно оценить растворимость полипептида до и после гидролиза PLC/PLD, а также применить компьютерные алгоритмы для выявления сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря. Белки с GPI-якорем могут быть определены по солюбилизации после специфического ферментативного или химического расщепления в сочетании с распределением в

растворе детергента (например, в растворе Тритон® X-114), по распознаванию антителами и с помощью метаболической радиоактивной метки.

Распространенным методом, используемым для выявления белков с GPI-якорем, является их отделение от клеточной поверхности или их солюбилизация при обработке препаратов бактериальной PI-PLC или GPI-специфической фосфолипазой C трипаномы (GPI-PLC). Указанные ферменты расщепляют диацилглицерол в мембране и производят иммунореактивный гликановый эпитоп (CRD) в белке, который можно обнаружить методом Вестерн-блоттинг с антителами против GPI трипаносом. Общая проблема, связанная с этим подходом, особенно характерная для клеток млекопитающих, заключается в том, что липаза не расщепляет GPI якорь, в котором инозитол ацилирован. Для анализа требуется предварительная обработка разбавленной щелочью для удаления остатков жирных кислот от инозитольного кольца. Альтернативно, для расщепления GPI-якоря можно использовать полученную из сыворотки GPI-специфическую фосфолипазу D. Этот фермент расщепляет связь между инозитольным кольцом и фрагментом фосфатидной кислоты и не ингибируется ацилированием инозитола. Обработка плавиковой кислотой расщепляет связь между инозитольным кольцом и фрагментом фосфатидной кислоты, а также расщепляет фосфодиэфирные связи между любыми фосфоэтаноламинами и остатками маннозы. Обработка разведенной азотистой кислотой особенно полезна при изучении GPI-якорей, поскольку при такой обработке специфично расщепляется связь между неацетилованным глюкозамином и инозитольным кольцом, освобождая связанный с гликаном белок (содержащий маркерный ангидроманнозный фрагмент) и фосфатидилинозитол. В сочетании с антителами к CRD, анализом химического состава, радиоактивным мечением миоинозитола, этаноламина, глюкозамина, маннозы или жирных кислот, хроматографическим анализом или анализом с распределением в растворе детергентов, указанные способы расщепления представляют собой мощный набор инструментов для изучения GPI-якорей белков.

Для идентификации консенсусной сигнальной последовательности присоединения GPI-якоря в полипептидах были разработаны различные *in silico* методы и алгоритмы (см., например, Udenfriend и др., (1995) *Methods Enzymol.* 250:571-582; Eisenhaber и др., (1999) *J. Biol. Chem.* 274: 741-758, Kronegg and Buloz, (1999); "Detection/prediction of GPI cleavage site (GPI-anchor) in a protein (DGPI)", 129.194.185.165/dgpi/; Fankhauser и др., (2005) *Bioinformatics* 21:1846-1852; Omaetxebarria и др., (2007) *Proteomics* 7:1951-1960; Pierleoni и др., (2008) *BMC*

*Bioinformatics* 9:392); включая алгоритмы, легко доступные на биоинформатических веб-сайтах, таких как вебсайт ExPASy Proteomics tools (вебсайт [expasy.ch/tools/](http://expasy.ch/tools/)). Таким образом, специалист в данной области может определить, содержит ли полипептид PH20 сигнальную последовательность присоединения GPI-якоря, и, следовательно, является ли полипептид PH20 белком с GPI-якорем.

#### **Н. Способы лечения и применения длинных растворимых PH20 и других растворимых PH20 и комбинированная терапия**

Для терапевтического применения на людях были разработаны и одобрены препараты различных форм гиалуронидазы PH20. Например, препараты гиалуронидаз животного происхождения включают Vitrase® (ISTA Pharmaceuticals), очищенную из бараньих яичек гиалуронидазу, Amphadase® (Amphastar Pharmaceuticals), гиалуронидазу из бычьих яичек. Гиалуронидаза Hylenex® (Halozyme Therapeutics) является человеческой рекомбинантной гиалуронидазой, получаемой генно-инженерным методом в клетках яичника китайского хомячка (CHO), содержащих нуклеиновую кислоту, кодирующую растворимую rHuPH20. Одобренное терапевтическое применение гиалуронидазы включает применение в качестве адъюванта для усиления абсорбции и дисперсии других лекарственных средств, применение для гиподермоклаза (подкожного введения жидкости), в качестве вспомогательного средства при подкожной урографии для улучшения рассасывания рентгеноконтрастного вещества. Дополнительно гиалуронидазу можно использовать в качестве терапевтического или косметического средства для лечения некоторых заболеваний и состояний.

Гиалуронидазы были также использованы для повышения активности химиотерапевтических агентов и/или доступности опухолей для химиотерапевтических агентов (Schuller и др., 1991, *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.* 32:173, реферат № 1034; Czejka и др., 1990, *Pharmazie* 45:H.9). Комбинированная химиотерапия с гиалуронидазой эффективна при лечении различных видов рака, включая рак мочевого пузыря (Horn и др., 1985, *J. Surg. Oncol.* 28: 304-307), плоскоклеточный рак (Kohn и др., 94, *J. Cancer Res. Oncol.* 120: 293-297), рак молочной железы (Beckenlehner и др., 1992, *J. Cancer Res. Oncol.* 118: 591-596) и двенадцатиперстной кишки (Scheithauer и др., 1988, *Anticancer Res.* 8: 391-396). Гиалуронидаза эффективна в качестве отдельного терапевтического агента для лечения рака мозга (глиомы) (опубликованная заявка PCT WO88/02261, публикация 7 апреля 1988). Введение гиалуронидазы также индуцирует восприимчивость ранее

резистентных к химиотерапии опухолей поджелудочной железы, желудка, толстой кишки, яичников и молочной железы (Baumgartner и др., 1988, *Reg. Cancer Treat.* 1:55-58; Zanker и др., 1986, *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.* 27: 390). К сожалению, загрязнения и не человеческого происхождения таких гиалуронидаз приводит к анафилактическим реакциям.

В дополнение к своим непрямым противоопухолевым эффектам гиалуронидазы проявляют также прямые противоопухолевые эффекты. Гиалуронидаза предотвращает рост пересаженных мышам опухолей (De Maeyer и др., 1992, *Int. J. Cancer* 51: 657-660) и подавляет образование опухолей при воздействии канцерогенов (Pawlowski и др., 1979, *Int. J. Cancer* 23:105-109; Haberman и др., 1981, *Proceedings of the 17th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology, Washington, D.C.*, 22:105, реферат № 415).

В частности, гиалуронидаза РН20 может быть использована для лечения связанных с гиалуроновой кислотой заболеваний или связанных с высоким давлением интерстициальной жидкости, таким как внутридисковое давление, состояний, пролиферативных расстройств, таких как рак и доброкачественная гиперплазия предстательной железы, и отеков. Отек может быть, например, проявляться при пересадке органов, инсульте или травме мозга или являться следствием таких состояний. Пролиферативные расстройства включают, но не ограничиваются раком, пролиферацией гладкомышечных клеток, системным склерозом, циррозом печени, респираторным дистресс-синдромом взрослых, идиопатической кардиомиопатией, системной красной волчанкой, ретинопатией, например, диабетической ретинопатией или другой ретинопатией, сердечной гиперплазией, связанными с репродуктивной системой расстройствами, такими как доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) и киста яичников, легочным фиброзом, эндометриозом, фиброматозом, гарматомой, лимфангиоматозом, саркоидозом, десмоидной опухолью. Раки включают твердые опухоли и раки лимфатической системы/крови, а также метастазы и недифференцированные опухоли. Поддающиеся лечению опухоли обычно характеризуются клеточной и/или стромальной экспрессией гиалуронана по сравнению с не раковой тканью того же типа или по сравнению с не метастазирующей опухолью того же типа. Раки включают рак яичников, *in situ* карциному (ISC), плоскоклеточный рак (ПКР), рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, другие виды рака желудка, немелкоклеточный рак легкого, рак молочной железы, рак мозга и рак толстой кишки.

Таким образом, гиалуронидазы PH20 имеют несколько областей применения помимо их использования в качестве агента для распространения. Гиалуронидазу обычно применяют, например, для перibuльбарного блока для местной анестезии в офтальмохирургии. Наличие фермента устраняет необходимость дополнительных блоков и ускоряет наступление акинезии (потери подвижности глаза). Перibuльбарный блок и субтеноновый блок являются наиболее распространенными методиками офтальмологической медицины, в которых применяют гиалуронидазу. Гиалуронидаза также может способствовать акинезии в косметической хирургии, например, при блефаропластике и подтяжке лица. Подразумевается, что растворимая гиалуронидаза PH20 по настоящему документу, в том числе гиалуронидаза esPH20, может быть использована в любом методе лечения или в комбинированной терапии, для которых применяют гиалуронидазу PH20 (см., например, опубликованные заявки США №№ US20040268425; US20050260186; US20060104968 и заявки США №№ 12/381,844, 12/386,249, 12/387,225 и 12/386,222, приведенные здесь в качестве ссылки в полном объеме). Примеры терапевтического и косметического применения гиалуронидазы описаны ниже.

### **1. Применение в качестве агента для распространения и для комбинированной терапии**

Как отмечалось выше, гиалуронидаза представляет собой агент, усиливающий распространение или диффузию вещества, который изменяет проницаемость соединительной ткани посредством гидролиза гиалуроновой кислоты, полисахарида межклеточного вещества соединительной ткани, а также некоторых специализированных тканей, таких как ткань пуповины и стекловидного тела. В отсутствие фактора распространения введенные подкожно вещества, такие как лекарственные средства, белки, пептиды и нуклеиновые кислоты, распространяются очень медленно. Совместная инъекция с гиалуронидазой, однако, может привести к быстрому распространению вещества. Скорость диффузии пропорциональна количеству фермента, а величина диффузии пропорциональна объему раствора.

PH20, в том числе растворимые PH20, такие как esPH20 по настоящему документу, могут быть использованы для содействия доставке или улучшения доставки агентов и молекул к любой из различных тканей млекопитающих *in vivo*. Указанные ферменты могут быть использованы для облегчения диффузии и, следовательно, могут способствовать доставке низкомолекулярных фармакологических агентов, а также высокомолекулярных фармакологических

агентов, таких как белки, нуклеиновые кислоты, рибонуклеиновые кислоты и высокомолекулярные композиции, которые могут содержать комбинацию компонентов, включая, но не ограничиваясь нуклеиновыми кислотами, белками, углеводами, липидами, молекулами с липидной основой и лекарственными препаратами (см. например, опубликованные заявки США №№ US20040268425; US20050260186 и US20060104968). PH20, в том числе растворимый полипептид PH20, такой как esPH20, может быть введен пациенту и/или включен в фармацевтическую композицию совместно с терапевтическим агентом для улучшения биодоступности, а также фармакокинетических (PK) и/или фармакодинамических (PD) характеристик совместно вводимого или включенного в ту же композицию агента. PK/PD параметры, которые можно улучшить с помощью растворимого PH20, такого как esPH20, включают такие показатели, как  $C_{\max}$  (максимальная концентрация агента после абсорбции, например, в крови),  $T_{\max}$  (время, необходимое для достижения максимальной концентрации),  $T_{1/2}$  (время, необходимое для уменьшения концентрации в два раза),  $C_{\min}$  (минимальная концентрация агента после метаболизма и выведения), AUC (площадь под кривой зависимости концентрации от времени, является мерой общей биодоступности), концентрация в различных интересующих тканях (включая, например, скорость достижения желаемых концентраций, общую концентрацию и продолжительность поддержания желаемой концентрации), а также  $E_{\max}$  (максимальный достигаемый эффект).

Предусмотренные в данном изобретении способы лечения включают лечение заболевания или расстройства посредством комбинированной терапии с терапевтическим агентом, используемым для лечения такого заболевания. Любой терапевтический агент, который улучшает симптомы и или иным образом уменьшает тяжесть заболевания или состояния, может быть комбинирован с растворимым PH20 по настоящему документу в целях увеличения биодоступности такого терапевтического агента. В частности, растворимые полипептиды PH20 по настоящему документу, такие как esPH20s, могут быть использованы вместо раскрытой гиалуронидазы или деградирующего гиалуронан фермента в каждой комбинации и во всех комбинациях, описанных, например, в опубликованных заявках США №№ US20040268425; US20050260186; US20060104968 и заявках США №№ 12/381,844, 12/386,249, 12/387,225 и 12/386,222.

Растворимые полипептиды PH20 по настоящему документу, в частности полипептиды esPH20, могут быть введены до, после, с перерывом или одновременно

с препаратом терапевтического агента. Как правило, растворимые RH20 вводят до введения препарата терапевтического агента или одновременно с введением препарата терапевтического агента для разрушения растворимым RH20 гиалуроновой кислоты в интерстициальном пространстве. Растворимые RH20 могут быть введены в место, отличное от места введения терапевтического агента, или растворимые RH20 могут быть введены то же место, в которое вводят терапевтический агент.

Примеры фармацевтических, терапевтических и косметических агентов и молекул, которые могут быть введены с гиалуронидазой, включают, но не ограничиваются химиотерапевтическими или противораковыми агентами, анальгетиками, антибиотиками, противовоспалительными средствами, противомикробными агентами, противоамебными агентами, противотрихомонадными агентами, агентами для лечения болезни Паркинсона, противомаларийными агентами, противосудорожными агентами, антидепрессантами, противодартритными агентами, противогрибковыми агентами, антигипертензивными агентами, жаропонижающими агентами, противопаразитными агентами, антигистаминными агентами, агонистами альфа-адренорецепторов, альфа-блокаторами, анестетиками, расширяющими бронхи агентами, биоцидными агентами, бактерицидными агентами, бактериостатическими агентами, бета-адренергическими блокаторами, блокаторами кальциевых каналов, сердечнососудистыми агентами, противозачаточными агентами, косметическими агентами, противоотечными агентами, мочегонными агентами, депрессантами, диагностическими агентами, электролитами, снотворными агентами, гормонами, средствами против гипергликемии, миорелаксантами, агентами, вызывающими сокращение мышц, офтальмологическими агентами, парасимпатомиметическими агентами, антидепрессантами, седативными средствами, симпатомиметиками, транквилизаторами, агентами для лечения заболеваний, связанных с мочевой системой, агентами для лечения вагинальных заболеваний, противовирусными препаратами, витаминами, нестероидными противовоспалительными средствами, ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента и любыми их комбинациями. В конкретном примере терапевтический агент включает антитела, в том числе моноклональные антитела, бисфосфонаты, инсулины и иммуноглобулины.

Примеры антибиотиков включают, но не ограничиваются аминогликозидами; амфениколами; ансамицинами; карбацефемами; карбапенемами, цефалоспоринами или цефемами; цефамицинами; клавамом; циклическими липопептидами;

диаминопиримидинами; кетолидами; линкозамидами, макролидами; монобактамами; нитрофуранами; оксацефемами; оксазолидинонами; пенемами, тиенамицинами и различными бета-лактамами; пенициллинами; полипептидными антибиотиками; хинолонами; сульфонидами; сульфонами; тетрациклинами и другими антибиотиками (например, клофоктолом, фузидиевой кислотой, гексидином, метенамином, нитрофурантоинами, нитроксолинами, ритипенемами, тауролидинами, ксибомолами).

Примеры терапевтических агентов также включают модифицирующие свойства крови агенты, такие как антигемофильные факторы, противоингибиторные комплексы свертывания IX, антитромбин III, фактор свертывания VII, фактор свертывания VIII, факторы свертывания, фракции белков плазмы, фактор Виллебранда; антитромбоцитные агенты (включая, например, абциксимаб, анагрелид, цилостазол, клопидогрель бисульфат, дипиридамол, эпопростенол, эптифибатид, тирофибан; колониестимулирующие факторы (КСФ) (в том числе, например, гранулоцитный КСФ и гранулоцитарный макрофагальный КСФ); стимуляторы эритропоэза (включая, например, эритропоэтины, такие как дарбэпоэтин альфа) и эпоэтин альфа; кровоостанавливающие средства и альбумины (включая, например, апротинин, комбинации антигемофильных факторов и плазмы, десмопрессин ацетат и альбумины), иммуноглобулины, иммуноглобулины против гепатита В; ингибиторы тромбина (включая, например, прямые ингибиторы тромбина и лепирудин), дротексин альфа; антикоагулянты (включая, например, дальтепарин, эноксапарин, другие гепарины и варфарины).

Другие примеры терапевтических агентов, которые могут быть комбинированы путем совместного введения и/или включения в одну композицию с растворимым РН20, таким как esРН20, включают, но не ограничиваются адалимумабом, агалсидазой бета, алефацептом, ампициллином, анакинра, вакциной против полиомиелита, противотимоцитными агентами, азитромицином, бекаплермином, каспофунгином, цефазолином, цефепимом, цефотетаном, цефтазидимом, цефтриаксоном, цетуксимабом, циластатином, клавулановой кислотой, клиндамицином, дарбэпоэтином альфа, даклизумабом, дифтерией, дифтерийным антитоксином, дифтерийным анатоксином, эфализумабом, эпинефрином, эритропоэтином альфа, этанерцептом, филграстимом, флуконазолом, фолликулостимулирующим гормоном, фоллитропином альфа, фоллитропином бета, фосфенилоином, гадодамином, гадопентетатом, гатифлоксацином, глатирамером, ГМ-КСФ, гозерелином, гозерелин ацетатом, гранизетроном, *Haemophilus Influenza B*,



галоперидолом, вакциной против гепатита, вакциной против гепатита А, вакциной против гепатита В, ибритумомаб тиукситаном, ибритумомабом, тиукситаном, иммуноглобулинами, вакциной против *Haemophilus Influenza*, вакциной против вируса гриппа, инфликсимабом, инсулином, инсулином гларгин, интерферонами, интерфероном альфа, интерфероном бета, интерфероном гамма, интерфероном альфа-2а, интерфероном альфа-2b, интерфероном альфа-1, интерфероном альфа-n3, интерфероном бета, интерфероном бета-1а, интерфероном гамма, консенсус-интерфероном альфа, йодиксанолом, йогексолом, йопамидолом, йоверсолом, кеторолаком, ларонидазой, левофлоксацином, лидокаином, линезолидом, лоразепамом, вакциной против кори, вирусом кори, вирусом свинки, вакциной против кори, свинки и краснухи, вакциной против краснухи, медроксипрогестероном, меропенемом, метилпреднизолоном, мидазоламом, морфином, октреотидом, омализумабом, ондансетроном, паливизумабом, пантопразолом, пегаспаргазой, пегфилграстимом, ПЭГ-интерфероном альфа-2а, ПЭГ-интерфероном альфа-2b, пегвисомантом, вакциной против коклюша, пиперациллином, пневмококковой вакциной и пневмококковой конъюгатной вакциной, прометазинном, ретеплазой, соматропином, сульбактамом, суматриптаном, тазобактамом, тенектеплазой, очищенным столбнячным анатоксином, тикарциллином, тозитумомабом, триамцинолоном, триамцинолон ацетонидом, триамцинолон гексацетонидом, ванкомицином, иммуноглобулинами против ветряной оспы, вакциной против ветряной оспы, другими вакцинами, алектумабом, алитретиноином, аллопуринолом, алтретамином, амифостином, анастрозолом, препаратами мышьяка, триоксидом мышьяка, аспарагиназой, бациллой Кальметта-Герена (вакциной БЦЖ), живой БЦЖ, бексаротеном, блеомицином, бусульфаном, бусульфаном для внутривенного введения, бусульфаном для орального введения, калустероном, капецитабином, карбоплатином, кармустином, кармустином с полифепропаном, селекоксибом, хлорамбуцилом, цисплатином, кладрибином, циклофосфамидом, цитарабином, липосомальным цитарабином, дакарбазином, дактиномицином, липосомальным даунорубицином, даунорубицином, дауномицином, денилейкин дифтитоксом, дексразоксаном, доцетакселом, доксорубицином, липосомальным доксорубицином, дромостанолон пропионатом, раствором Эллиотта В, эпирубицином, эпоэтином альфа, эстрамустином, этопозидом, этопозид фосфатом, этопозидом VP-16, эксеместаном, флоксуридином, флударабином, фторурацилом, 5-фторурацилом, фулвестрантом, гемцитабином, гемтузумабом, озогамицином, гемтузумаб

озогамицином, гидроксимочевиной, идарубицином, ифосфамидом, иматиниб мезилатом, иринотеканом, летрозолом, лейковорином, левамизолом, ломустинном, CCNU, мехлоретамином, азотистыми ипритами, мегестролом, мегестрол ацетатом, мелфаланом, L-PAM, меркаптопурином, 6-меркаптопурином, месна, метотрексатом, метоксаленами, митомицинами, Митомицин Си, митотанами, митоксантронами, препараты нандролон, нандролон фенпропионатом, нофетумомабом, опрелвекином, оксалиплатином, паклитакселом, памидронатом, пегадемазой, пентостатином, пипоброманом, пликамицином, митрамицином, порфимером, порфимером натрия, прокарбазином, квинакрином, расбуриказой, ритуксимабом, сарграмостимом, стрептозоцином, тальком, тамоксифеном, темозоломидом, тенипозидом, тестолактоном, тиагуанином, 6-тиагуанином, триэтилентифосфорамином (тиотепа), топотеканом, торемифеном, трастузумабом, третиноином, урацилипритом, валрубицином, винбластинном, винкристином, винорелбином, золедронатом, ацивицином, акларубицином, акодазолом, акренином, адозелезином, алдеслейкином, ретиноевой кислотой, алитретиноином, 9-цис-ретиноевой кислотой, алвоцидибом, амбазоном, амбомицином, аметантроном, аминоклутетимидом, амсакрином, анаксирином, анситабином, антрамицином, апазиквоном, аргимесна, асперлином, атримустинном, азацитидином, азетеп, азотомидином, баноксантроном, батабулином, батимастатом, бенаксибином, бендамустином, бензодепа, бикалутаидом, биетасерпином, бирикодаром, бизантроном, биснафида димезилатом, бизелезином, бортезомибом, бреквинаром, бропирамином, будотитаном, кактиномицином, канертинином, карацемидом, карбетимером, карбоквоном, кармофуром, карубицином, карзелезином, седефинголом, семадотинном, хлорамбуцилом, циотеронелом, циролемицином, кланфенуром, клофарабином, криснатолом, децитабином, дексигулдипином, дексормаплатином, дезагуанином, диазиквоном, диброспидиумом, диеногестом, диналином, дизермолидом, дофеквидаром, доксифлуридином, дролоксифеном, дуазомицином, экомустинном, эдатрексатом, эдотекарином, эфломитином, элакридарином, элинафидом, элсамитрусином, эмитефуром, энлоплатином, энпромадом, энзастаурином, эпипропидином, эпталопростом, эрбулозолом, эзорибицином, этанидазолом, этоглуцидом, этоприном, эксизулинном, фадрозолом, фазарабином, фенретиноидом, флуоксиместероном, флуороцитабином, фосхидоном, фостриецинном, фотретамином, галарубицином, галоцитабином, герохинолом, гиматеканом, гимерацилом, глоксазоном, глуфосфамидом, илмофозином, иломастатом, имексоном, импросульфамом, индизуламом, инпроквоном, интерлейкином,

интерлейкином-2, рекомбинантным интерлейкином, интоплицином, иобенгуаном, ипроплатином, ирсогладином, иксабепилоном, кетотрексатом, L-аланозином, ланреотидом, лапатинибом, ледоксантроном, лейпролидом, лейпрорелином, лексакалцитолом, лиарозолом, лобоплатином, лометрексоллом, лонафарнибом, лозоксантроном, луртотеканом, мафосфамидом, манносальфаном, маримастатом, мазопроколом, мейтансином, мехлоретамином, меленгестролом, мейфаланом, меногарилом, мепитиостаном, метезиндом, метомидатом, метоприном, метуредепом, мибоплатином, мипроксифеном, мизонидазолом, митиндомидом, митокарцином, митокромином, митофлаксоном, митогиллином, митогуазоном, митомалцином, митонафидом, митоквидоном, митоспером, митозоломидом, мивобулином, мизорибином, мофаротеном, мопидамолом, мубритинибом, микофеноловой кислотой, недаплатином, нейзарабином, неморубицином, нитракрином, нокодазолом, ногаламицином, нолатрекседом, нортотриксантроном, ормеплатином, ортатакселом, отерацилом, оксизураном, оксофенарсином, патубилоном, пелледином, пелиомицином, пелитрексоллом, пеметрекседом, пентамустином, пепломицином, перфосфамидом, перифозином, пикоплатином, пинафидом, пипосульфамом, пирфенидоном, пироксантроном, пиксантроном, плевитрекседом, племестаном, порфиромицином, преднимустином, пропамидином, проспидиумом, пумитепа, пурамицином, пиазофурином, ранимустином, рибопримом, ритросульфамом, роглетимидом, роквинимексом, руфокромомидином, сабарубицином, сафинголом, сатраплатином, себиплатином, семустином, симтразеном, сизофираном, собузоксаном, сорафенибом, спарфозатом, спарфозовой кислотой, спарсомицином, спирогерманием, спиромустином, спироплатином, скваламином, стрептонигрином, стрептоварицином, суфосфамидом, сулофенуром, тацединалином, тализомицином, таллимустиндом, тариквидаром, тауромустином, текогаланом, тегафуром, телоксантроном, темопорфином, тероксином, тиамиприном, тиазофурином, тиломизолом, тилороном, тимкодаром, тимонацисом, тирапазамином, топиксантроном, трабектедином, эктеинасцидином 743, трестолоном, трицирибином, трилостаном, триметрексатом, триплатин тринитратом, трипторелином, трофосфарнидом, тубулозолом, убенимексом, уредепом, валсподаром, вапреотидом, вертепорфином, винбиастином, виндезином, винепидином, винфлунином, винформидом, винглицинатом, винлейцинолом, винлейрозином, винрозилином, винтриптолом, винзолидином, ворозолом, ксантомицином, гуамециклином, зениплатином, зиласкорбом [2-Н], зиностатином, зорубицином, зосуквидаром, ацетазоламидом, ацикловиром, адипиодоном,

алатрофлорксацином, алфентанилом, противоаллергенными экстрактами, ингибиторами альфа-1-протеиназы, аипростадилом, амикацином, аминокислотами, аминокaproновой кислотой, аминофиллином, амитриптилином, амобарбиталом, амриноном, анальгетиками, вакцинами против полиомиелита, сывороткой против бешенства, противостолбнячными иммуноглобулинами, вакциной против столбняка, антитромбином III, противоядной сывороткой, аргатробаном, аргинином, аскорбиновой кислотой, атенололом, атракуриумом, атропином, ауротиоглюкозой, азатиоприном, азтреонамом, бацитрацином, баклофеном, базиликсимабом, бензойной кислотой, бензтропином, бетаметазоном, биотином, бивалирудином, антитоксином ботулизма, бретилиумом, буметанидом, бупивакаином, бупренорфином, буторфанолом, кальцитонином, кальцитриолом, кальцием, капреомицином, карбопростом, карнитином, цефамандолом, цефоперазоном, цефотаксимом, цефокситином, цефтизоксимом, цефуроксимом, хлорамфениколом, хлорпрокаином, хлорохином, хлортиазидом, хлорпромазином, хондроитинсульфокислотой, хориогонадотрофином альфа, хромиумом, цидофовиром, циметидином, ципрофлорксацином, цизатракурием, клонидином, кодеином, колхицином, колистином, коллагеном, трифлутатом кортикорелина, кортикотрофином, косинтропином, цианкобаламином, циклоспорином, цистеином, дакликсимабом, далфопристином, далтепаринном, данапароидом, дантроленом, дефероксамином, десмопрессинном, дексаметазоном, дексмететомидином, декспантенолом, декстраном, декстраном железа, диатриэовой кислотой, диазепамом, диазоксидом, дицикломином, дигибиндом, дигоксином, дигидроэрготамином, дилтиаземом, дифенгидраминном, дипиридамолом, добутамином, допамином, доксакуриумом, доксапрамом, доксеркальциферолом, доксициклином, дропериолом, дифиллином, эдетовой кислотой, эдрофонием, эналаприлатом, эфедрином, эпопростенолом, эргокальциферолом, эргоновином, эртапенемом, эритромицином, эсмололом, эстрадиолом, эстрогеном, этакриновой кислотой, этаноламином, этанолом, этидированным маслом, этидроновой кислотой, этомидатом, фактором VIII, фамотидином, фенолдопамом, фентанилом, флумазенилом, флуоресцеином, флуфеназином, фолиевой кислотой, фомепизолом, фомивирсеном, фондапаринуксом, фоскарнетом, фосфенитоином, фурсемидом, гадотеридолом, гадоверсетамином, ганцикловиром, гентамицином, глюкагоном, глюкозой, глицином, гликопирролатом, гонадорелином, хориальный гонадотропин, полисахаридами Haemophilus B, гемином, травяными препаратами, гистамином, гидралазином, гидрокортизолом, гидроморфоном, гидроксокобаламином,

гидроксизин, гиосциамин, ибутилид, имиглуцеразой, индигокармином, индометацином, йодидами, иопромидом, йоталамовой кислотой, иоксагловой кислотой, иоксиланом, изониазидом, изопротеренолом, вакциной против японского энцефалита, канамицином, кетамин, лабеталолом, лепирудином, левобупивакаин, левотироксин, линкомицин, лиотиронином, лютеинизирующим гормоном, вакциной против болезни Лайма, мангафодипиром, маннитолом, менингококковой полисахаридной вакциной, меперидином, мепивакаин, мезоридазин, метарамином, метадоном, метокарбамол, метогекситалом, метилдопатом, метилэргоновин, метоклопрамидом, метопрололом, метронидазолом, миноциклином, мивакурием, морруиновой кислотой, моксифлоксацином, муромонаб-CD3, микофенолата мофетил, нафциллин, налбуфин, налмефен, налоксоном, неостигмин, ниаминамидом, никардипин, нитроглицерин, нитропруссид, норэпинефрин, орфенадрин, оксациллин, оксиморфон, окситетрациклин, окситоцин, панкуроний, пантенол, пантотеновой кислотой, папаверин, ПЭГ-интерфероном-альфа (например, интерфероном альфа-2а или -2б), пенициллин G, пентамидин, пентазоцин, пентобарбитал, перфитрун, перфеназин, фенобарбитал, фентоламин, фенилэфрин, фенитоин, физостигмин, фитонадион, полимиксин b, пралидоксим, прилокаин, прокаинамид, прокаин, прохлорперазин, прогестерон, пропранолол, пиридостигмин гидроксид, пиридоксин, квинидин, хинупристин, антителами против бешенства, вакциной против бешенства, ранитидин, ремифентанил, рибофлавин, рифампин, ропивакаин, самарин, скополамин, селен, серморелин, синкалдин, соматрон, спектиномицин, стрептокиназа, стрептомицин, сукцинилхолин, суфентанил, сульфаметоксазол, такролимус, тербуталин, терипаратид, тестостерон, антитоксин столбняка, тетракаин, тетрадецил сульфат, теofilлин, тиамин, тизитлперазин, тиопентал, тиреотропный гормон, тинзапарин, тирофибан, тобрамицин, толазолин, толбутаид, торсемид, транексамовой кислотой, трепростинил, трифторперазин, триметобензамид, триметоприм, триметиамин, туберкулин, вакциной против брюшного тифа, урофоллитропин, урокиназа, вальпроевой кислотой, вазопрессин, векурониум, верапамил, вориконазол, варфарин, вакциной против желтой лихорадки, зидовудин, цинк, зипрасидон гидрохлорид, аклациномицин, актиномицин, адриамицин, азасерин, 6-азауридин,

карзинофилином, хромомицином, деноптеринном, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцином, эноцитабином, локсуридином, оливомицином, пирарубицином, пиритрексимом, птероптеринном, тагафуром, туберцидином, алтеплазой, арцитумомабом, бевацизумабом, ботулиническим токсином А типа, ботулиническим токсином В типа, капромаб пендетидом, даклизумабом, дорназой альфа, дротрекогином альфа, имциромабом пентетатом и йодом-131.

В частности, терапевтические агенты включают, но не ограничиваются иммуноглобулинами, интерфероном бета, интерфероном альфа-2а, интерфероном альфа-1, интерфероном альфа-п3, интерфероном бета-1, интерфероном бета-1а, интерфероном гамма-1b, ПЭГ-интерфероном альфа-2 и ПЭГ-интерфероном альфа-2b, инсулином, бисфосфатом (например, памидронатом или золедронатом), доцетакселом, доксорубицином, липосомальным доксорубицином и бевацизумабом.

## **2. Применение фермента для удаления избытка гликозамигликанов**

Изобретение включает методы лечения связанных с гиалуроновой кислотой заболеваний и состояний введением композиции, содержащей растворимую РН20, причем растворимую гиалуронидазу можно применять отдельно или в сочетании или в дополнение к другому агенту и/или способу лечения. Связанные с гиалуроновой кислотой заболевания или состояния относятся к любым заболеваниям или состояниям, при которых в качестве причины, последствия или иного фактора наблюдается повышение уровня гиалуроновой кислоты, такие заболевания возможно лечить введением композиции гиалуронидазы, такой как растворимая РН20, причем растворимую гиалуронидазу можно применять отдельно или в сочетании или в дополнение к другому агенту и/или способу лечения.

Как правило, связанные с гиалуроновой кислотой заболевания и состояния характеризуются повышенной экспрессией гиалуронана в тканях, клетках или биологических жидкостях (например, в опухолевой ткани или опухоль-ассоциированной ткани, в крови или интерстициальном пространстве) по сравнению с контролем, например, другой тканью, другими клетками или биологическими жидкостями. Экспрессия гиалуронана может быть повышена по сравнению с нормальной тканью, клетками или биологическими жидкостями, например, тканью, клетками или жидкостью, аналогичными исследуемому образцу, но выделенными из другого субъекта, например, нормального субъекта (т.е. субъекта, который не страдает заболеванием или состоянием или который не страдает тем же заболеванием или состоянием, которым страдает исследуемый субъект), например,

субъекта, который не страдает связанным с гиалуроновой кислотой заболеванием или состоянием. Экспрессия гиалуронана может быть повышена по сравнению с аналогичным образцом ткани другого субъекта, который страдает аналогичным заболеванием или состоянием, но в менее тяжелой форме и/или заболевание которого не является связанным с гиалуроновой кислотой или характеризуется относительно меньшей экспрессией гиалуронана и, таким образом, является в меньшей степени связанным с гиалуроновой кислотой заболеванием. Например, исследуемый субъект может являться субъектом, страдающим связанным с гиалуроновой кислотой раком, и количество ГК (гиалуроновой кислоты) в ткани, клетках или жидкости у субъекта повышено по сравнению с образцами субъекта с менее тяжелой формой рака, например, раком на ранней стадии, дифференцированным раком или другим видом рака. В другом примере в клетках, ткани или жидкости содержание гиалуронана повышено по сравнению с контрольным образцом, таким как жидкость, ткань, экстракт (например, клеточный или ядерный экстракт), препарат нуклеиновых кислот или пептидов, клеточная линия, биоптат, стандартный или другой образец с известным абсолютным или относительным количеством ГК, например, образец опухолевой клеточной линии, которая, как известно, экспрессирует ГК на относительно низком уровне, например, образец описанной в данном изобретении опухолевой клеточной линии, которая экспрессирует ГК на низком уровне, например, клеточной линии НСТ 116, клеточной линии НТ29, клеточной линии NCI H460, клеточной линии DU145, клеточной линии Саран-1, или образец опухоли из модели опухоли, полученной с применением таких клеточных линий.

В некоторых случаях связанные с гиалуроновой кислотой заболевания и состояния характеризуются повышенным давлением интерстициальной жидкости, уменьшенным сосудистым объемом и/или повышенным содержанием воды в тканях, таких как опухоли. В одном из примеров лечение композициями и соединениями по настоящему документу улучшает один или несколько из указанных симптомов или других симптомов, связанных с заболеванием или состоянием, например, увеличивает выживаемость и улучшает качество жизни субъекта с течением времени или подавляет рост опухоли.

Примеры связанных с гиалуроновой кислотой заболеваний и состояний, которые можно лечить с помощью предусмотренных в данном изобретении ферментов, композиций и методов, включают, но не ограничиваются богатыми гиалуронаном раками, например, опухолями, в том числе плотными опухолями,

такими как опухоли на поздней стадии рака, метастатическими раками, недифференцированными раками, раком яичников, карциномой *in situ* (ISC), плоскоклеточным раком (SCC), раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, немелкоклеточным раком легкого, раком молочной железы, раком толстой кишки и другими видами рака.

Также примерами связанных с гиалуроновой кислотой заболеваний или состояний являются заболевания, связанные с повышенным давлением интерстициальной жидкости, такие как связанные с внутримозговым давлением заболевания и отеки, например, отек при пересадке органов, инсульте, травме мозга или другой травме. Примеры связанных с гиалуроновой кислотой заболеваний или состояний включают заболевания и состояния, связанные с повышением давления интерстициальной жидкости, снижением сосудистого объема и/или повышением содержания воды в тканях, включая рак, повышенное внутримозговое давление и отеки. В одном из примеров лечение связанного с гиалуроновой кислотой заболевания, состояния или нарушения приводит к улучшению, уменьшению или другому полезному эффекту по отношению к повышенному давлению интерстициальной жидкости (IFP), сниженному сосудистому объему и повышенному содержанию воды в тканях.

Как правило, связанные с гиалуроновой кислотой заболевания или состояния характеризуются повышенной экспрессией ГК, например, в пораженной ткани, например, в опухоли. В одном примере в тканях субъекта, например, в пораженной ткани образуются гало (перичеселлюлярные области матрикса, богатые протеогликанами, в том числе гиалуронатом). В другом примере наличие гало можно обнаружить *in vivo* в культуре клеток из ткани субъекта, например, в культуре из подверженной заболеванию ткани.

#### **а. Применение для лечения рака**

Гиалуронидаза оказывает прямой противораковый эффект, деградируя гиалуроновую кислоту в опухолях. Таким образом, растворимая гиалуронидаза PH20, такая как esPH20, может быть использована для лечения опухолей, в частности, опухолей, которые богаты гиалуронатом. Богатый гиалуронатом рак может представлять собой рак, при котором раковые клетки образуют гало, рак, при котором имеет место повышенная экспрессия гиалуронана (определяют методом иммуногистохимии, например, с помощью гистологического окрашивания срезов опухоли), рак, при котором имеет место повышенная активность HAS2 (гиалуронан синтазы 2), рак, клетки которого не производят гиалуронидазу (HYAL1) *in vitro*.



Богатый гиалуронатом рак может быть определен с помощью любого метода оценки экспрессии гиалуронана, а также другими известными методами анализа экспрессии белка/мРНК.

Описано несколько богатых гиалуроновой кислотой видов рака. В некоторых случаях экспрессия гиалуронана коррелирует с плохим прогнозом, например, пониженной выживаемостью и/или пониженной безрецидивной выживаемостью, метастазированием, ангиогенезом, инвазией раковых клеток в другие ткани/области, а также другими показателями плохого прогноза. Такую корреляцию наблюдали, например, для богатых гиалуроновой кислотой опухолей, включая рак яичников, плоскоклеточный рак (SCC), ISC, рак простаты, рак легких, в том числе немелкоклеточный рак легкого (HMPЛ), рак молочной железы, рак толстой кишки и рак поджелудочной железы (см., например, Maarit и др., *Cancer Research*, 60:150-155 (2000); Karvinen и др., *British Journal of Dermatology*, 148:86-94 (2003); Lipponen и др., *Eur. Journal of Cancer*, 849-856 (2001); Pirinen и др., *Int. J. Cancer*: 95: 12-17 (2001); Auvinen и др., *American Journal of Pathology*, 156(2):529-536 (2000); Ropponen и др., *Cancer Research*, 58: 342-347 (1998)). Таким образом, для лечения одного или более симптомов рака богатый гиалуроновой кислотой рак можно лечить введением гиалуронидазы, такой как растворимая PH20. Богатые гиалуроновой кислотой опухоли включают, но не ограничиваются опухолями простаты, молочной железы, толстой кишки, яичников, желудка, головы и шеи, а также другими опухолями и видами рака.

Гиалуронидазы также могут быть использованы для повышения чувствительности устойчивых к традиционной химиотерапии опухолей. Например, пациенту с опухолью, характеризующейся дефектом HYAL1, можно вводить гиалуронидазу, такую как растворимая PH20, в количестве, достаточном для увеличения диффузии в опухоли (например, для облегчения проникновения химиотерапевтического агента в опухоль и/или увеличения концентрации химиотерапевтического агента в опухоли), ингибирования подвижности опухолевых клеток, например, за счет деградации гиалуроновой кислоты, и/или снижения порога чувствительности опухолевых клеток к апоптозу. Воздействие гиалуронидазы может перевести опухолевые клетки в состояние аноксиза, что сделает опухолевые клетки более восприимчивыми к действию химиотерапевтических агентов. Введение гиалуронидазы может сенсibilизировать ранее резистентные к химиотерапии опухоли поджелудочной железы, желудка, толстой кишки, яичников и молочной железы (Baumgartner и др. (1988) *Reg. Cancer Treat.* 1:55-58; Zanker и др. (1986) *Proc.*

*Amer. Assoc. Cancer Res.* 27:390). Таким образом, в дополнение к лечению рака введением растворимой РН20, предусмотренные в данном изобретении композиции и методы также могут быть использованы для лечения связанных с гиалуроновой кислотой видов рака путем введения растворимой РН20 в сочетании с химиотерапевтическим или другим противораковым агентом или методом лечения, причем гиалуронидазу можно вводить, например, одновременно с другим агентом, либо до него. В этом примере гиалуронидаза, такая как растворимая РН20, как правило, способствует проникновению химиотерапевтического или другого противоракового агента в плотную опухоль, таким образом способствуя лечению заболевания.

Композиции, содержащие растворимую РН20, могут быть введены интратуморально совместно с противораковым агентом или внутривенно в случае диссеминированного рака или труднодоступной опухоли. Противоопухолевый агент может представлять собой химиотерапевтический агент, антитело, пептид, вектор для генной терапии, вирус или ДНК. Кроме того, гиалуронидазу можно использовать для перевода опухолевых клеток в пул делящихся клеток для сенсibilизации ранее устойчивых к химиотерапии опухолей, которые приобрели множественную лекарственную устойчивость (St Croix и др., (1998) *Cancer Lett*, September 131(1): 35-44).

Примеры противораковых агентов, которые могут быть введены после, совместно или до введения растворимой РН20, такой как esРН20, включают, но не ограничиваются ацивицином; акларубицином; акодазолом; акронином; адозелезином; алдеслейкином; алемтузумабом; алитретиноином (9-цис-ретиноевой кислотой); аллопуринолом; алтретином; алвоцидибом; амбазоном; амбомицином; аметантроном; амифостиним; аминоклотиимидом; амсакрином; анастрозолом; анаксирином; анситабином; антрамицином; апазиквоном; аргимесна; триоксидом мышьяка; аспарагиназой; асперлином; атримустиним; азацитидином; азетепом; азотимицином; баноксантроном; батабулином; батимастатом; живой БЦЖ; бенаксибином; бендамустином; бензодепа; бексаротеном; бевацизумабом; бикалутамидом; биетасерпином; бирикодаром; бизантроном; бизантроном; биснафида димезилатом; бизелезином; блеомицином; бортезомибом; бреквинаром; бропиримином; будотитаном; бусульфаном; кактиномицином; калустероном; канертинином; капецитабином; карацемидом; карбетимером; карбоплатином; карбоквоном; кармофуром; кармустином с полифепрозаном; кармустином; карубицином; карзелезином; седефинголом; селекоксибом; семадотином;

хлорамбуцилом; циотеронелом; циролемицином; цисплатином; кладрибином;  
 кланфенуром; клофарабином; криснатолом; циклофосфамидом; липосомальным  
 цитарабином; цитарабином; дакарбазином; дактиномицином; дарбэпоэтином альфа;  
 липосомальным даунорубицином; даунорубицином/дауномицином;  
 даунорубицином; децитабином; денилейкин дифтитоксом; декснигулдипином;  
 дексоннаплатином; дексразоксаном; дезагуанином; диазиквоном; диброспидиумом;  
 диеногестом; диналином; дизермолидом; доцетакселом; дофеквидаром;  
 доксифлуридином; липосомальным доксорубицином; доксорубицином HCl;  
 липосомальным докорубицином HCl для инъекций; доксорубицинами;  
 дролоксифеном; дромостанолон пропионатом; дуазомицином; экомустинном;  
 эдатрексатом; эдотекарином; эфлорнитином; элакридаром; элинафидом; раствором  
 Эллиотта В; элсамитрусином; эмитефуром; энлоплатином; энпроматом;  
 энзастаурином; эпипропидином; эпирубицином; эпоэтином альфа; эпталопростом;  
 эрбулозолом; эзорубицином; эстрамустином; этанидазолом; этоглуцидом; этопозид  
 фосфатом; этопозидом VP-16; этопозидами; этоприном; эксместаном;  
 эксизулиндом; фадрозолом; фазарабином; фенретинидом; филграстимом;  
 флоксуридином; флударабином; фторурацилом; 5-фторурацилом;  
 флуоксиместероном; флуороцитабином; фосхидоном; фостриечином; фотретамином;  
 фулвестрантом; галарубицином; галоцитабином; гемцитабином;  
 гемтузумаб/озогамицином; герохинолом; гиматеканом; гимерацилом; глоксазоном;  
 глюфосфамидом; гозерелин ацетатом; гидроксимочевинной;  
 ибритумомаб/тиукситаном; идарубицином; ифосфамидом; илмофозином;  
 иломастатом; иматиниб мезилатом; имексоном; импросульфамом; индизуламом;  
 инпроквоном; интерфероном альфа-2а; интерфероном альфа-2b; интерфероном  
 альфа, интерфероном бета, интерфероном гамма, интерферонами, интерлейкином-2  
 и другими интерлейкинами (в том числе рекомбинантными интерлейкинами);  
 интоплицином; иобенгуаном [131-I]; ипроплатином; иринотеканом; ирсогладином;  
 иксабепилоном; кетотрексатом; L-аланозином; ланреотидом; лапатинибом;  
 ледоксантроном; летрозолом; лейковорином; лейпролидом; лейпрорелином  
 (лейпрорелидом); левамизолом; лексакалцитолом; лиарозолом; лобоплатином;  
 лометрексолом; ломустином/CCNU; ломустином; лонафарнибом; лозоксантроном;  
 луртотеканом; мафосфамидом; манносульфамом; маримастатом; мазопроколом;  
 мейтансином; мехлоретамином; мехлоретамином/азотистым ипритом; мегестрол  
 ацетатом; мегестролом; меленгестролом; мелфаланом; мелфаланом/L-РАМ;  
 меногарилом; мепитиостаном; меркаптопурином; 6-меркаптопурином; месна;

метезиндом; метотрексатом; метоксаленом; метомидатом; метоприном; метуредеп; мибоплатином; мипроксифеном; мизонидазолом; митиндомидом; митокарцином; митокромином; митофлаксоном; митогиллином; митогуазоном; митомалцином; митомицином С; митомицином; митонафидом; митоквидоном; митоспером; митотаном; митоксантроном; митозоломидом; мивобулином; мизорибином; мофаротеном; мопидамолом; мубритинибом; микофеноловой кислотой; нандролон фенпропионатом; недаплатином; нелзарабином; неморубицином; нитракрином; нокодазолом; нофетумомабом; ногаламицином; нолатрекседом; нортотипксантроном; октреотидом; опрелвекином; ормаплатином; ортатакселом; отерацилом; оксалиплатином; оксизураном; оксофенарсином; паклитакселом; памидронатом; патубилоном; пегадемазой; пегаспаргазой; пегфилграстимом; пелдезином; пелиомицином; пелитрексоллом; пеметрекседом; пентамустином; пентостатином; пепломицином; перфосфамидом; перифозином; пикоплатином; пинафидом; пипоброманом; пипосульфамом; пирфенидоном; пироксантроном; пиксантроном; плевитрекседом; пликамицид митрамицином; пликамицином; плместаном; плместаном; порфимером натрия; порфимером; порфирамицином; преднимустином; прокарбазином; пропамидином; проспидиумом; пумитепа; пурамицином; пиразофурином; квинакрином; ранимустином; расбуриказой; рибопримом; ритросульфамом; ритуксимабом; роглетимидом; роквинимексом; руфокромомицином; сабарубицином; сафинголом; сарграмостимом; сатраплатином; себриплатином; семустином; симтразеном; сизофираном; собузоксаном; сорафенибом; спарфозатом; спарфозовой кислотой; спарсомицином; спирогерманием; спиромустином; спироплатином; скваламином; стрептонигрином; стрептоварицином; стрептозоцином; суфосфамидом; сулофенуром; сунитиниб малатом; 6-TG; тацединалином; тальком; тализомицином; таллимустином; тамоксифеном; тариквидаром; тауромустином; текогаланом; тегафуром; телоксантроном; темопорфином; темозоломидом; тенипозидом/VM-26; тенипозидом; тероксином; тестолактоном; тиамиприном; тиагуанином; тиотепа; тиамиприном; тиазофурином; тиломизолом; тилороном; тимкодаром; тимонацисом; тирапазамином; топиксантроном; топотеканом; торемифеном; тозитумомабом; трабектедином (эктеинасцидином 743); трастузумабом; трестолоном; третиноином/ATRA; трицирибином; трилостаном; триметрексамом; триплатин тринитратом; трипторелином; трофосфамидом; тубулозолом; убенимексом; урацилипритом; уредеп; валрубицином; валсподаром; вапреотидом; вертепорфином; винбластином; винкристином; виндезином; винепидином;

винфлунином; винформидом; винглицинатом; винлейцинолом; винлейрозином; винорелбином; винрозидином; винтриптолом; винзолидином; ворозолом; ксантомицином А (гуамециклином); зениплатином; зиласкорбом [2-Н]; зиностатином; золедронатом; зорубицином и зосуквидаром, например:

алдеслейкином (например, Proleukin®); алемтузумабом (например, Campath®); алитретиноином (например, Panretin®); аллопуринолом (например, Zylprim®); алтретамином (например, Hexalen®); амифостином (например, Ethyol®); анастрозолом (например, Arimidex®); триоксидом мышьяка (например, Trisenox®); аспарагиназой (например, Elspar®); живой БЦЖ (например, Tice® БЦЖ); бексаротеном (например, Targretin®); бевацизумабом (Avastin®); блеомицином (например, Blenoxane®); бусульфаном для внутривенного введения (например, Busulfex®); бусульфаном для орального введения (например, Myleran™); калустероном (например, Methosarb®); капецитабином (например, Xeloda®); карбоплатином (например, Paraplatin®); кармустином (например, BCNU®, BiCNU®); кармустином с полифепрозаном (например, Gliadel® Wafer); селекоксибом (например, Celebrex®); хлорамбуцилом (например, Leukeran®); цисплатином (например, Platinol®); кладрибином (например, LEustatin®, 2-CdA®); циклофосфамидом (например, Cytoxan®, Neosar®); цитарабином (например, Cytosar-U®); липосомальным цитарабином (например, DepoCyt®); дакарбазином (например, DTIC-Dome®); дактиномицином (например, Cosmegen®); дарбэпоэтином альфа (например, Aranesp®); липосомальным даунорубицином (например, Danuoxome®); даунорубицином/дауномицином (например, Cerubidine®); денилейкин дифтитоксом (например, Ontak®); дексразоксаном (например, Zinecard®); доцетакселом (например, Taxotere®); доксорубицином (например, Adriamycin®, Rubex®); липосомальным доксорубицином, в том числе липосомальным докорубицином HCl для инъекций (например, Doxil®); пропионатом дромостанолонa (например, Dromostanolone® и Masterone®); раствором Эллиотта В (например, Elliott's B Solution®); эпирубицином (например, Ellence®); эпоэтином альфа (например, Erogen®); эстрамустином (например, Emcyt®); этопозид фосфатом (например, Etopophos®); этопозидом VP-16 (например, Vepesid®); эксеместаном (например, Aromasin®); филграстимом (например, Neupogen®); флоксуридином (например, Fudr®); флударабином (например, Fludara®); фторурацилами, включая 5-FU (например, Adrucil®); фулвестрантом (например, Faslodex®); гемцитабином (например, Gemzar®); гемтузумаб/озогамицином (например, Mylotarg®); гозерелин ацетатом (например,

Zoladex®); гидроксимочевинной (например, Hydrea®); ибритумомаб/тиукситаном (например, Zevalin®); идарубицином (например, Idamycin®); ифосфамидом (например, Ifex®); иматиниб мезилатом (например, Gleevec®); интерфероном альфа-2а (например, Roferon-A®); интерфероном альфа-2b (например, Intron A®); иринотеканом (например, Camptosar®); летрозолом (например, Femara®); лейковорином (например, Wellcovorin®, Leucovorin®); левамизолом (например, Ergamisol®); ломустинном/CCNU (например, CeeBU®); мехлоретамином/азотистым ипритом (например, Mustargen®); мегэстрол ацетатом (например, Megace®); мелфаланом/L-PAM (например, Alkeran®); меркаптопуринами, включая 6-MP (например, Purinethol®); месна (например, Mesnex®); метотрексатом; метоксаленом (например, Uvadex®); митомицином С (например, Mutamycin®, Mitozytrex®); митотаном (например, Lysodren®); митоксантроном (например, Novantrone®); нандролон фенпропионатом (например, Durabolin-50®); нофетумомабом (например, Verluma®); опрелвекином (например, Neumega®); оксалиплатином (например, Eloxatin®); паклитакселом (например, Paxene®, Taxol®); памидронатом (например, Aredia®); пегадемазой (например, Adagen®); пегаспаргазой (например, Oncaspar®); пегфилграстимом (например, Neulasta®); пентостатином (например, Nipent®); пипоброманом (например, Vercyte®); пликамицин/митрамицином (например, Mithracin®); порфимером натрия (например, Photofrin®); прокарбазином (например, Matulane®); квинакрином (например, Atabrine®); расбуриказой (например, Elitek®); ритуксимабом (например, Rituxan®); сарграмостимом (например, Prokine®); стрептозоцином (например, Zanosar®); сунитиниб малатом (например, Sutent®); тальком (например, Sclerosol®); тамоксифеном (например, Nolvadex®); темозоломидом (например, Temodar®); тенипозидом/VM-26 (например, Vumon®); тестолактоном (например, Teslac®); тиагуанинами, включая 6-TG; тиотепа (например, Thioplex®); топотеканом (например, Нусамтин®); торемифеном (например, Fareston®); тозитумомабом (например, Веххар®); трастузумабом (например, Herceptin®); третиноином/АТРА (например, Vesanoïd®); урацилипритом; валрубицином (например, Valstar®); винбластином (например, Velban®); винкристином (например, Oncovin®); винорелбином (например, Navelbine®), а также золедронатом (например, Zometa®).

В одном из примеров растворимую PH20, такую как esPH20, например, пегилированную gHuPH20, вводят субъекту после, совместно или до введения одного или нескольких агентов, выбранных из доцетаксела (например, Taxotere®),

липосомального доксорубина (например, Doxil®), сунитиниб малата (например, Sutent®) или бевацизумаба (Avastin®).

Таким образом, растворимые полипептиды PH20 по настоящему документу могут быть использованы для лечения метастатического и не метастатического рака, включая различные виды рака со сниженной эндогенной гиалуронидазной активностью относительно активности в не раковых клетках. Гиалуронидаза может быть использована как химиотерапевтический агент для монотерапии или может быть использована в комбинации с другими химиотерапевтическими агентами. Примеры видов рака включают, но не ограничиваются мелкоклеточным раком легкого, плоскоклеточным раком легкого, раком молочной железы, яичников, головы и шеи или любым другим видом рака, связанным с понижением гиалуронидазной активности или уменьшением катаболизма гиалуроновой кислоты.

#### **в. Применение для лечения накопления гликозаминогликанов в мозге**

Уровень гиалуроновой кислоты повышен при ряде патологических состояний спинного мозга. Уровень гиалуроновой кислоты в спинном мозге взрослых людей составляет, как правило, менее 200 мкг/л (Laurent и др. (1996) *Acta Neurol Scand September* 94(3): 194-206), однако содержание гиалуронана может повыситься до более чем 8000 мкг/л при таких заболеваниях, как менингит, стеноз позвоночного канала, черепно-мозговая травма и инфаркт головного мозга. При критически повышенном уровне субстрата для его разрушения могут быть использованы гиалуронидазы, такие как, например, растворимая gHuPH20.

Отсутствие эффективной лимфатической системы в мозге также может привести после травмы головы к опасным для жизни отекам. Накопление гиалуроновой кислоты является результатом увеличения ее синтеза гиалуронансинтазой и уменьшения ее деградации. Накопление гиалуроновой кислоты изначально может играть позитивную роль, увеличивая содержание воды в поврежденных тканях, облегчая тем самым экстравазацию лейкоцитов, но продолжение процесса накопления может привести к летальному исходу. Введение страдающему от травмы головы пациенту гиалуронидазы, например, интратекально или внутривенно, может привести к удалению гиалуроновой кислоты и связанной с ней накопленной воды из ткани.

Растворимая PH20 также может быть использована при лечении связанного с опухолями головного мозга отека, в частности, связанного с полиморфной глиобластомой отека. Связанные с опухолями головного мозга отеки являются результатом накопления гиалуроновой кислоты в незлокачественных областях

мозга, прилежащих к опухоли. Введение растворимой гиалуронидазы RH20 в область накопления гиалуроновой кислоты (например, путем внутривенной инъекции или через шунт) может уменьшить связанный со злокачественными новообразованиями отек за счет разрушения избытка гиалуроновой кислоты в месте введения.

#### **с. Применение в лечении накопления гликозаминогликанов при сердечнососудистых заболеваниях**

Растворимая гиалуронидаза RH20 может быть использована для лечения некоторых сердечнососудистых заболеваний. Введение гиалуронидазы животным после экспериментального инфаркта миокарда может уменьшить размер инфаркта (Maclean, et al (1976) *Science* 194(4261):199-200). Одним из предложенных механизмов, объясняющих наблюдаемое явление, является уменьшение количества гиалуроновой кислоты, накопление которой происходит после ишемии-реперфузии. Уменьшение затронутой инфарктом области, как полагают, происходит за счет увеличения лимфодренажа, усиления оксигенации тканей и восстановления содержания воды в миокарде.

Растворимые гиалуронидазы RH20 также могут быть использованы для разрушения коронарных атеросклеротических бляшек. В таких бляшках происходит накопление гликозаминогликанов, что опосредует адгезию макрофагов и пенных клеток (Kolodgie и др. (2002) *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 22(10):1642-8).

#### **d. Применение в витрэктомии и для лечения офтальмологических нарушений и состояний**

Гиалуронидаза, такая как растворимая RH20, может быть использована для минимизации отслоения или разрыва сетчатки во время витрэктомии. Применение гиалуронидазы может привести, например, к отделению или отслоению стекловидного тела от сетчатки до удаления стекловидного тела. Такое отслоение сетчатки или отделение стекловидного тела могут свести к минимуму вероятность того, что при удалении стекловидного тела произойдет дальнейший разрыв или отделение сетчатки.

Гиалуронидаза, такая как растворимая RH20, может быть использована в офтальмологии для различных целей, например, как вспомогательное средство при витрэктомии, как описано в патенте США № 5,292,509. С точки зрения минимизации иммуногенности и токсичности применение высокоочищенной гиалуронидазы, такой как, например, растворимая RH20 по настоящему документу, является предпочтительным при внутриглазном введении.



Растворимая гиалуронидаза PH20 может быть использована для лечения и/или предотвращения офтальмологических расстройств, например, предотвращения образования новых сосудов и увеличения скорости клиренса токсичных для сетчатки материалов из стекловидного тела. Растворимую гиалуронидазу PH20 можно вводить в количестве, эффективном для разжижения стекловидного тела глаза, не вызывая при этом токсического повреждения глаза. Разжижение стекловидного тела увеличивает скорость обмена жидкости из глазной камеры. Указанное усиление обмена приводит к удалению загрязняющих агентов, присутствие которых может привести к повреждению глаза и сетчатки.

Растворимую гиалуронидазу PH20 также можно использовать для уменьшения внутриглазного давления после операции. Гиалуроновую кислоту использовали в офтальмологии в первую очередь для защиты тканей глаза во время удаления катаракты и имплантации искусственного хрусталика. Гиалуроновую кислоту также применяли для других глазных хирургических процедур, таких как лечение глаукомы, хирургия стекловидного тела и сетчатки, трансплантация роговицы. Частым побочным эффектом, проявляющимся у пациентов после удаления катаракты, является быстрое и иногда длительное повышение внутриглазного давления. Такое состояние иногда может привести к серьезным последствиям особенно у пациентов с вызванными глаукомой изменениями слепого пятна. Для уменьшения послеоперационного глазного давления гиалуронидазу, такую как растворимая PH20, можно вводить одновременно с гиалуроновой кислотой до операции на глазе. Гиалуронидазу вводят в эффективном для снижения внутриглазного давления до предоперационного уровня количестве, давление снижается за счет разрушения гиалуроновой кислоты, что не уменьшает ее эффективность во время операции и не вызывает побочных эффектов у пациента (патент США № 6,745,776).

Растворимую гиалуронидазу PH20 также можно вводить пациентам с глаукомой для удаления гликозаминогликанов из трабекулярной сети и снижения внутриглазного давления, фермент можно нанести на стекловидное тело, что может содействовать рассасыванию кровоизлияния в стекловидном теле (т.е. выходу крови из сосуда в стекловидное тело), которое может произойти в связи с такими состояниями, как диабетическая ретинопатия, неоваскуляризация сетчатки, закупорка вен сетчатки, заднее отслоение стекловидного тела, разрыв сетчатки, травма глаза и тому подобное. Наличие кровоизлияния в стекловидное тело, которое рассасывается обычно очень медленно, может затянуть, осложнить или исключить

возможность проведения процедуры, требующей осмотра сетчатки через стекловидное тело для диагностики и/или терапевтических процедур, такой как лазерная фотокоагуляция и тому подобное, которые часто являются первыми методами лечения для таких состояний, как пролиферативная диабетическая ретинопатия.

#### **е. Применение при гиподермоклизе**

Гиподермоклиз, вливание жидкости и электролитов в подкожную клетчатку, является полезной и простой методикой гидратации, подходящей для лечения взрослых пациентов с легким и средним обезвоживанием, особенно пожилых людей. Хотя данная процедура считается безопасной и эффективной, наиболее часто проявляющимся побочным эффектом является умеренный подкожный отек, который можно лечить с помощью массажа или системных диуретиков. В течение 24 часов в два отдельных сайта можно ввести приблизительно 3 л жидкости. Обычно места инфузии включают грудь, живот, бедра и предплечья. Используемые для гиподермоклаза растворы включают, например, изотонический раствор, полуизотонический раствор, изотонический раствор с глюкозой и 5% раствор глюкозы. К раствору также может быть добавлен хлористый калий. Добавление гиалуронидазы, такой как растворимая РН20, к раствору может усилить поглощение жидкости и повысить общую скорость введения.

#### **f. Применение для генной терапии**

Эффективность большинства средств доставки генов *in vivo* не соответствует эффективности, наблюдаемой *in vitro*. Гликозаминогликаны могут мешать передаче и проникновению ДНК и вирусных векторов во множество типов клеток. Такие преграды, как материал внеклеточного матрикса, могут значительно мешать процессу. Введение гиалуронидазы, такой как растворимая РН20, может открыть каналы во внеклеточном матриксе, тем самым способствуя доставке агентов генной терапии. Например, для облегчения трансдукции ДНК *in vivo* растворимая РН20 может быть введена совместно с коллагеназой (Dubensky и др. (1984) *Proc Natl Acad Sci USA* 81(23): 7529-33). Гиалуронидазы также могут способствовать генной терапии с применением адено-ассоциированных вирусов (Favre et al, (2000) *Gene Therapy* 7(16):1417-20). Размер образовавшихся после введения гиалуронидазы каналов позволяет усилить диффузию таких частиц как ретровирусы, аденовирусы, адено-ассоциированные вирусы и ДНК-комплексы (как и другие интересующие терапевтические и фармакологические агенты). Поры, однако, не настолько велики, чтобы содействовать перемещению и движению клеток.

В некоторых примерах могут быть разработаны вирусы, экспрессирующие для облегчения их репликации и распространения в ткани-мишени гиалуронидазу, такую как растворимая RH20. Ткань-мишень может представлять собой, например, раковую ткань, и вирус может быть способен селективно реплицироваться внутри опухоли. Вирус также может представлять собой нелитический вирус, способный селективно реплицироваться под контролем тканеспецифического промотора. При репликации вируса коэкспрессия гиалуронидазы с вирусными генами может способствовать распространению вируса *in vivo*.

#### **g. Косметическое применение**

Гиалуронидазы, такие как растворимая RH20, можно вводить для удаления гликозаминогликанов, участвующих в накоплении целлюлита, и для содействию лимфотоку. Например, растворимая RH20 может быть использована для лечения целлюлита. Гиалуронидазы можно вводить многократными подкожными инъекциями, с помощью трансдермальной доставки в виде мазей или кремов, либо с применением инъекционных композиций с замедленным высвобождением, что будет содействовать постоянной деградации гликозаминогликанов и не допускать их повторного накопления.

Гиалуронидаза, такая как растворимая RH20, также может быть использована для лечения таких состояний как отек типа "свиная кожа" или отек типа "апельсиновой корки". Гиалуронидаза может вызвать деполимеризацию длинных мукополисахаридных цепей, которые могут накапливаться в дерме и которые отвечают за удержание связанной воды и замедление за счет капиллярного сжатия диффузии жидкостей организма, которые устраняют отходы метаболизма. Такая задержка воды и отходов связана с перегрузкой жиром липоцитов и представляет собой классический отек типа "свиная кожа" или отек типа "апельсиновой корки". В процессе деполимеризации длинные цепочки мукополисахаридов могут быть фрагментированы на более короткие цепи, что приведет к удалению связанной воды и отходов и восстановлению венозной и лимфатической циркуляции, что приведет к исчезновению местных отеков.

#### **h. Применение при трансплантации органов**

Содержание гиалуроновой кислоты в органе может увеличиться с воспалением. Повышение концентрации гиалуроновой кислоты наблюдается в тканях различных органов, характеризующихся воспалительно-иммунологическим состоянием, таким как альвеолит (Nettelbladt и др. (1991) *Am. Rev. Resp. Dis.* 139: 759-762) и инфаркт миокарда (Waldenstrom и др. (1991) *J. Clin. Invest.* 88(5): 1622-

1628). Другие примеры включают отторжение аллотрансплантата после трансплантации почек (Hallgren и др. (1990) *J. Exp. Med.* 171: 2063-2076; Wells и др. (1990) *Transplantation* 50: 240-243), тонкой кишки (Wallander и др. (1993) *Transplant. Int.* 6: 133-137) или сердца (Hallgren и др. (1990) *J Clin Invest* 85:668-673), а также воспаление миокарда вирусного происхождения (Waldenstrom и др. (1993) *Eur. J. Clin. Invest.* 23: 277-282). Появление интерстициального отека в связи с пересадкой органа представляет серьезную проблему в области трансплантационной хирургии. Трансплантат с интерстициальным отеком может набухать до такой степени, что его функция будет временно потеряна. В некоторых случаях разбухание может привести к нарушению функции почек, что приводит к крупному кровотечению. Гиалуронидазы, такие как растворимые PH20, могут быть использованы для разрушения накопленных гликозаминогликанов в пересаженном органе. Удаление таких гликозаминогликанов способствует удалению воды из трансплантата и таким образом способствует функционированию органа.

#### **i. Применение при заболевании легких**

Уровень гиалуроновой кислоты в бронхоальвеолярном лаваже (БАЛ) здоровых людей, как правило, ниже 15 нг/мл. Уровень гиалуроновой кислоты в БАЛ резко растет в условиях дыхательной недостаточности (Bjermer et al.(1987) *Br Med J (Clin Res Ed)* 295(6602):803-6). Повышенный уровень гиалуроновой кислоты в легких может мешать диффузии кислорода и газообмену, а также активировать ответов нейтрофилов и макрофагов. Чтобы уменьшить уровень гиалуронана, очищенные препараты растворимой PH20, такой как любая PH20 по настоящему документу, могут быть доставлены пациентам с такими состояниями легочно или внутривенно. Гиалуронидазу, такую как растворимая PH20, также можно вводить пациентам, страдающим от других легочных осложнений, связанных с повышенным уровнем гликозаминогликанов, также гиалуронидазу можно вводить для улучшения доставки других совместно вводимых молекул в легкие.

#### **3. Другие области применения**

В других примерах терапевтического применения гиалуронидазу, такую как растворимая PH20, в том числе esPH20 по настоящему документу, можно использовать в качестве антидота от местного некроза, вызванного околовенозной инъекцией некротического вещества, такого как алкалоиды винка (Few et al. (1987) *Amer. J. Matern. Child Nurs.* 12, 23-26), для лечения ганглиозной кисты (Paul et al. (1997) *J Hand Surg.* 22 (2): 219-21) и лечения некроза тканей из-за венозной недостаточности (Elder et al. (1980) *Lancet* 648-649). Растворимая PH20 также может

быть использована для лечения ганглиозной кисты (также известной как киста запястья, киста Библии или дорсальная киста сухожилия), которая является наиболее распространенной опухолью мягкой ткани руки и представляет собой заполненный жидкостью объем, который можно почувствовать под кожей.

Гиалуронидазы, такие как растворимая РН20, могут быть использованы при лечении травм спинного мозга для разрушения протеогликана хондроитинсульфата (CSPG). После травмы спинного мозга астроциты формируют глиальные рубцы, содержащие CSPG. CSPG играет решающую роль в торможении роста аксонов. Кроме того, было показано, что после травмы центральной нервной системы (ЦНС) также происходит увеличение экспрессии CSPG. Растворимую РН20 также можно использовать для лечения грыжи межпозвоночного диска с помощью хемонуклеолиза. Хондроитиназа ABC, представляющая собой фермент, расщепляющий субстраты, аналогичные субстратам гиалуронидазы, может уменьшить внутридисковое давление в поясничном отделе позвоночника. Выделено три типа травм межпозвоночных дисков. Грыжа межпозвоночного диска относится к тому типу травмы, при котором диск не поврежден, но деформирован вздутием. При экструдированном диске его волокнистая оболочка порвана, и студенистое ядро диска выступило наружу, но все еще соединено с диском. При поглощенном диске фрагмент студенистого ядра оторван от диска и свободно перемещается в спинномозговом канале. Хемонуклеолиз, как правило, эффективен при экструдированном диске и грыже диска, но не при поглощенном диске.

### **I. Примеры**

Следующие примеры приведены в иллюстративных целях и не предназначены для ограничения объема изобретения.

#### **ПРИМЕР 1**

##### **Получение укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы РН20**

Получена серия укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы РН20. Зрелая человеческая гиалуронидаза РН20 или молекула адгезии сперматозоидов 1 (SPAM1) содержит 474 аминокислоты, в то время как получаемый по этому примеру зрелый укороченный с С-конца мутант включает в длину от 472 до 415 аминокислот.

ДНК-олигонуклеотиды, кодирующие усеченные с аминокислоты А507 до аминокислоты К450 с С-конца мутанты человеческой гиалуронидазы РН20, были синтезированы в соответствии со стандартными протоколами синтеза ДНК.

Исходная последовательность ДНК представляла собой кодон-оптимизированную нуклеотидную последовательность человеческой гиалуронидазы PH20, приведенную в SEQ ID NO: 2. Указанная последовательность человеческой гиалуронидазы PH20 с оптимизированными кодонами содержала гетерологичную сигнальную последовательность иммуноглобулина каппа (IGK), приведенную в SEQ ID NO: 144. Кроме того, для клонирования в плазмиду HZ24 последовательности содержали 5' NheI и 3' BamHI сайты рестрикции (SEQ ID NO: 140). Нуклеотидные последовательности укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы PH20 приведены в SEQ ID NOS: 146-185 и 199-201. Для получения индивидуальных клонов содержащих мутанта плазмид SPAM1-HZ24 синтетические последовательности ДНК расщепляли эндонуклеазами рестрикции NheI и BamHI и клонировали в расщепленную теми же ферментами плазмиду HZ24.

Укороченные с С-конца мутанты человеческой гиалуронидазы PH20 приведены в Таблице 3. Мутанты SPAM1 идентифицировали по 4 аминокислотам на С-конце белка. В таблице также приведены длины (в аминокислотах) предшественников и зрелых укороченных с С-конца мутантов.

**Таблица 3.** Укороченные с С-конца мутанты человеческой гиалуронидазы PH20

| Мутант     | Предшественник<br>(аминокислоты) | Предшественник<br>SEQ ID NO | Зрелый пептид<br>(аминокислоты) | Зрелый<br>пептид<br>SEQ ID NO |
|------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| SPAM1-VASL | 509                              | 1                           | 474                             | 108                           |
| SPAM1-SSVA | 507                              | 3                           | 472                             | 55                            |
| SPAM1-IISS | 505                              | 4                           | 470                             | 56                            |
| SPAM1-FLII | 503                              | 5                           | 468                             | 57                            |
| SPAM1-LFLI | 502                              | 47                          | 467                             | 99                            |
| SPAM1-ILFL | 501                              | 6                           | 466                             | 58                            |
| SPAM1-SILF | 500                              | 48                          | 465                             | 100                           |
| SPAM1-VSIL | 499                              | 7                           | 464                             | 59                            |
| SPAM1-IVSI | 498                              | 49                          | 463                             | 101                           |
| SPAM1-FIVS | 497                              | 8                           | 462                             | 60                            |
| SPAM1-TMFI | 495                              | 9                           | 460                             | 61                            |
| SPAM1-SATM | 493                              | 10                          | 458                             | 62                            |
| SPAM1-TLSA | 491                              | 11                          | 456                             | 63                            |
| SPAM1-PSTL | 489                              | 12                          | 454                             | 64                            |
| SPAM1-STLS | 490                              | 13                          | 455                             | 65                            |
| SPAM1-ASPS | 487                              | 14                          | 452                             | 66                            |
| SPAM1-YNAS | 485                              | 15                          | 450                             | 67                            |

|            |     |    |     |    |
|------------|-----|----|-----|----|
| SPAM1-FYNA | 484 | 16 | 449 | 68 |
| SPAM1-IFYN | 483 | 17 | 448 | 69 |
| SPAM1-QIFY | 482 | 18 | 447 | 70 |
| SPAM1-PQIF | 481 | 19 | 446 | 71 |
| SPAM1-EPQI | 480 | 20 | 445 | 72 |
| SPAM1-EEPQ | 479 | 21 | 444 | 73 |
| SPAM1-TEEP | 478 | 22 | 443 | 74 |
| SPAM1-ETEE | 477 | 23 | 442 | 75 |
| SPAM1-METE | 476 | 24 | 441 | 76 |
| SPAM1-PMET | 475 | 25 | 440 | 77 |
| SPAM1-PPME | 474 | 26 | 439 | 78 |
| SPAM1-KPPM | 473 | 27 | 438 | 79 |
| SPAM1-LKPP | 472 | 28 | 437 | 80 |
| SPAM1-FLKP | 471 | 29 | 436 | 81 |
| SPAM1-AFLK | 470 | 30 | 435 | 82 |
| SPAM1-DAFL | 469 | 31 | 434 | 83 |
| SPAM1-IDAF | 468 | 32 | 433 | 84 |
| SPAM1-CIDA | 467 | 33 | 432 | 85 |
| SPAM1-VCID | 466 | 34 | 431 | 86 |
| SPAM1-GVCI | 465 | 35 | 430 | 87 |
| SPAM1-DGVC | 464 | 36 | 429 | 88 |
| SPAM1-IADG | 462 | 37 | 427 | 89 |
| SPAM1-VCIA | 460 | 38 | 425 | 90 |
| SPAM1-VDVC | 458 | 39 | 423 | 91 |
| SPAM1-DAVD | 456 | 40 | 421 | 92 |
| SPAM1-DTDA | 454 | 41 | 419 | 93 |
| SPAM1-VKDT | 452 | 42 | 417 | 94 |
| SPAM1-ADVK | 450 | 43 | 415 | 95 |

## ПРИМЕР 2

### Экспрессия укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы PH20

Сконструированные в Примере 1 укороченные с С-конца мутанты человеческой гиалуронидазы PH20 экспрессировали в клетках CHO-S. Кроме того, rHuPH20 и PH20 с His-метками экспрессировали в каждом из четырех штаммов устойчивых к лектину мутантов CHO, включая Lec1 (№ CRL-1735, ATCC), Lec2 (№ CRL-1736, ATCC), Lec8 (№ CRL-1737, ATCC) и Pro-5 (№ CRL-1781). Экспрессия PH20 в мутантных клетках Lec более подробно описана в Примере 9 ниже.

#### А. Временная экспрессия в клетках CHO-S в 6-луночных планшетах

Сконструированные в Примере 1 плазмиды PH20-HZ24, содержащие мутантный ген, временно трансфицировали в клетки CHO-S (производные клеток яичников китайского хомячка CHO K1) с помощью GeneJuice® (Novagen) в соответствии с инструкциями производителя. Клетки CHO-S культивировали в CD CHO среде, дополненной L-глутамином. До трансфекции CHO-S клетки высевали на 6-луночные планшеты при плотности приблизительно  $5 \times 10^5$  клеток на лунку и выращивали в течение ночи при температуре 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Среду удаляли и CHO-S клетки промывали 2 раза 1 мл бессывороточной среды. GeneJuice® смешивали с бессывороточной средой с последующим добавлением 2 мкг ДНК мутантной HZ24. После инкубации при комнатной температуре в течение 5-15 минут смесь GeneJuice®/ДНК добавляли по каплям в лунки, содержащие отмытые CHO-S клетки. Через 4 часа среду заменяли на 1 мл CD-CHO среды, дополненной L-глутамином, и клетки инкубировали в течение 72 часов при температуре 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. После экспрессии среду и клетки собирали отдельно.

#### **В. Транзиентная экспрессия в клетках CHO в 10 см культуральных чашках**

Сконструированные в Примере 1 плазмиды PH20-HZ24, содержащие мутантный ген, временно трансфицировали в клетки CHO-S с помощью GeneJuice® (Novagen) в соответствии с инструкциями производителя. Кроме того, HZ24-PH20 (SEQ ID NO: 108, кодирующая rHuPH20), PH20 His, (SEQ ID NO: 187, кодирующая PH20 с His-меткой) и HZ24-Mut (B/S) (SEQ ID NO: 122, кодирующая укороченную до аминокислоты 482 PH20) временно трансфицировали в четыре штамма устойчивых к лектину мутантов CHO, включая Lec1 (№ CRL-1735, ATCC), Lec2 (№ CRL-1736, ATCC), Lec8 (№ CRL-1737, ATCC) и Pro-5 (№ CRL-1781), используя GeneJuice® (Novagen) в соответствии с инструкциями производителя.

Клетки CHO-S культивировали на CD-CHO среде, дополненной 8 mM GlutaMax. Устойчивые к лектину мутанты клеток CHO выращивали в среде DMEM с добавлением 10% ФБС. До трансфекции клетки CHO высевали в 10 см чашки для культивирования клеток при плотности  $3 \times 10^6$  клеток на лунку и выращивали в течение ночи в среде DMEM с добавлением 10% ФБС при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Среду удаляли и монослой клеток промывали 2 раза 10 мл бессывороточной среды. 36 мкл GeneJuice® смешивали с 1,2 мл DMEM и инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут. После инкубации к смеси добавили 12 мкг ДНК и осторожно перемешали. После инкубации при комнатной температуре в течение 15 минут смесь GeneJuice®/ДНК по каплям добавляли к монослою клеток CHO, после чего культуральную чашку осторожно покачали для перемешивания содержимого. Чашку



инкубировали в течение 4 часов при температуре 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Через 4 часа среду заменяли на 12 мл CD DG44 среды без детергента, дополненной Glutamax-1, и клетки инкубировали в течение 48 часов при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. После экспрессии отдельно собирали среду и клетки.

### **ПРИМЕР 3**

#### **Растворимость укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы RH20**

В этом примере после транзientной экспрессии, описанной в Примере 2 выше, среду и клетки отдельно собирали и анализировали на экспрессию и растворимость RH20 с помощью Вестерн-блоттинг анализа. Растворимость укороченных с С-конца мутантов определяли по локализации экспрессированного белка в культуральной среде или в клетках. Укороченные с С-конца мутанты длиной от 455 до 472 аминокислот, приведенные в SEQ ID NO: 55-65 и 99-101, содержат аминокислотные остатки GPI-якоря, которые служат для прикрепления белка к клеточной мембране. Клетки, экспрессирующие такие мутанты, обрабатывали фосфоинозитол-фосфолипазой C (PI-PLC), которая расщепляет GPI-якорь, высвобождая растворимый белок в среду, затем наличие RH20 в полученной среде и клетках определяли методом Вестерн-блоттинг анализа.

#### **А. Вестерн-блот анализ**

Не подвергнутые восстановлению образцы разделяли в 4-20 % Трис-глициновом геле и переносили на PVDF мембрану с помощью iBlot (Invitrogen). Для иммуоблоттинга в качестве первичных антител использовали кроличьи анти-RH20 IgG (0,5 мкг/мл), в качестве вторичных антител использовали HRP-конъюгаты козьих антител против IgG кролика (0,1 нг/мл, # DC03L, EMD). Наличие экспрессии определяли по полосе, соответствующей приблизительно 66 кДа, что соответствует рекомбинантной человеческой гиалуронидазе RH20.

#### **В. Обработка PI-PLC**

##### **1. Транзientная экспрессия в 6-луночных планшетах**

После экспрессии gHuRH20 в клетках CHO-S в течение 72 часов, как описано в Примере 2А выше, отдельно собирали среду и клетки. Клетки промывали бессывороточной средой, затем в каждую лунку добавляли по 2 мл бессывороточной среды. PI-PLC (0,5 ед/лунку) добавляли в каждую лунку, и клетки инкубировали с PI-PLC в течение 2 часов. Полученные среду и клетки анализировали с помощью Вестерн-блоттинг анализа, как описано выше.

## 2. Транзиентная экспрессия в 10 см культуральных чашках

Для каждого укороченного с С-конца мутанта два планшета заполняли экспрессирующими gHuPH20 CHO-S клетками, как описано выше в Примере 2В, один планшет обрабатывали PI-PLC, а другой не обрабатывали PI-PLC. После экспрессии в течение 48 часов отдельно собирали не обработанные PI-PLC клетки и среду. Собранную среду центрифугировали, концентрировали до объема 10 мл, и буфер заменяли на PBS с помощью концентратора Amicon с пределом исключения по молекулярной массе (MWCO) 30 кД. Клетки промывали холодным PBS, собирали и ресуспендировали в 1,2 мл PBS с ингибитором протеазы III (по каталогу № 539134, Calbiochem). Для получения цельноклеточного экстракта ресуспендированные клетки быстро обрабатывали ультразвуком. Для обработки клеток PI-PLC после экспрессии в течение 48 часов сначала, как описано выше, собирали необработанную среду. Клетки один раз промывали свежей средой CD DG44 с Glutamax-1, и среду заменяли на 12 мл свежей свободной от детергента среды CD DG44, дополненной Glutamax-1 с 3,0 единицами PI-PLC на чашку, затем клетки инкубировали в течение 2 часов при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Через 2 часа среду с PI-PLC и клетки собирали отдельно, как описано выше. Полученные необработанную среду и клетки и обработанные PI-PLC среду и клетки анализировали методом Вестерн-блоттинг, как описано выше.

### С. Результаты

Результаты представлены в Таблице 4 ниже. Четыре мутанта, ILFL (SEQ ID NO: 58), SILF (SEQ ID NO: 100), VSIL (SEQ ID NO: 59) и IVSI (SEQ ID NO: 101) характеризовались низкой экспрессией PH20. Анализ методом Вестерн-блоттинг показал, что укороченные с С-конца, по меньшей мере, до F500 мутанты человеческой гиалуронидазы PH20 (SEQ ID NOS: 59-95 и 100-101) экспрессируются в среду, о чем свидетельствует полоса, соответствующая белку с массой приблизительно 66 кДа. Укороченные с С-конца мутанты человеческой гиалуронидазы PH20, заканчивающиеся между L501 и A507 (SEQ ID NO: 55-58 и 99), экспрессируются и накапливаются в клетках. После обработки клеток PI-PLC человеческая гиалуронидаза PH20 секретируется в среду, о чем свидетельствует полоса, соответствующая белку с массой приблизительно 66 кДа. Обработка PI-PLC клеток, экспрессирующих укороченные с С-конца мутанты человеческой гиалуронидазы PH20, соответствующие SEQ ID NO: 59-65 и 100-101, не оказывает никакого эффекта, так как эти белки первоначально экспрессируются в среду.

Таблица 4. Экспрессия укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы PH20.

| Мутант                        | Зревший белок<br>(аминокислот) | Экспрессия<br>белка | Экспрессия в<br>среду | Экспрессия в среду<br>после обработки PI-PLC |
|-------------------------------|--------------------------------|---------------------|-----------------------|----------------------------------------------|
| SPAM1-VASL<br>(SEQ ID NO:108) | 474                            | да                  | нет                   | да                                           |
| SPAM1-SSVA<br>(SEQ ID NO:55)  | 472                            | да                  | нет                   | да                                           |
| SPAM1-IISS<br>(SEQ ID NO:56)  | 470                            | да                  | нет                   | да                                           |
| SPAM1-FLII<br>(SEQ ID NO:57)  | 468                            | да                  | нет                   | да                                           |
| SPAM1-LFLI<br>(SEQ ID NO:99)  | 467                            | да                  | нет                   | да                                           |
| SPAM1-ILFL<br>(SEQ ID NO:58)  | 466                            | слабая              | нет                   | да                                           |
| SPAM1-SILF<br>(SEQ ID NO:100) | 465                            | слабая              | слабая/да             | первоначально в<br>среду                     |
| SPAM1-VSIL<br>(SEQ ID NO:59)  | 464                            | слабая              | да                    | первоначально в<br>среду                     |
| SPAM1-IVSI<br>(SEQ ID NO:101) | 463                            | слабая              | да                    | первоначально в<br>среду                     |
| SPAM1-FIVS<br>(SEQ ID NO:60)  | 462                            | да                  | да                    | первоначально в<br>среду                     |
| SPAM1-TMFI<br>(SEQ ID NO:61)  | 460                            | да                  | да                    | первоначально в<br>среду                     |
| SPAM1-SATM<br>(SEQ ID NO:62)  | 458                            | да                  | да                    | первоначально в<br>среду                     |
| SPAM1-TLSA<br>(SEQ ID NO:63)  | 456                            | да                  | да                    | первоначально в<br>среду                     |
| SPAM1-STLS<br>(SEQ ID NO:65)  | 455                            | да                  | да                    | первоначально в<br>среду                     |
| SPAM1-PSTL<br>(SEQ ID NO:64)  | 454                            | да                  | да                    | первоначально в<br>среду                     |
| SPAM1-ASPS<br>(SEQ ID NO:66)  | 452                            | да                  | да                    | нет данных                                   |
| SPAM1-YNAS<br>(SEQ ID NO:67)  | 450                            | да                  | да                    | нет данных                                   |
| SPAM1-FYNA<br>(SEQ ID NO:68)  | 449                            | да                  | да                    | нет данных                                   |
| SPAM1-IFYN<br>(SEQ ID NO:69)  | 448                            | да                  | да                    | нет данных                                   |
| SPAM1-QIFY<br>(SEQ ID NO:70)  | 447                            | да                  | да                    | нет данных                                   |
| SPAM1-PQIF<br>(SEQ ID NO:71)  | 446                            | да                  | да                    | нет данных                                   |
| SPAM1-EPQI<br>(SEQ ID NO:72)  | 445                            | да                  | да                    | нет данных                                   |
| SPAM1-EEPQ<br>(SEQ ID NO:73)  | 444                            | да                  | да                    | нет данных                                   |

|                              |     |    |    |            |
|------------------------------|-----|----|----|------------|
| SPAM1-TEEP<br>(SEQ ID NO:74) | 443 | да | да | нет данных |
| SPAM1-ETEE<br>(SEQ ID NO:75) | 442 | да | да | нет данных |
| SPAM1-METE<br>(SEQ ID NO:76) | 441 | да | да | нет данных |
| SPAM1-PMET<br>(SEQ ID NO:77) | 440 | да | да | нет данных |
| SPAM1-PPME<br>(SEQ ID NO:78) | 439 | да | да | нет данных |
| SPAM1-KPPM<br>(SEQ ID NO:79) | 438 | да | да | нет данных |
| SPAM1-LKPP<br>(SEQ ID NO:80) | 437 | да | да | нет данных |
| SPAM1-FLKP<br>(SEQ ID NO:81) | 436 | да | да | нет данных |
| SPAM1-AFLK<br>(SEQ ID NO:82) | 435 | да | да | нет данных |
| SPAM1-DAFL<br>(SEQ ID NO:83) | 434 | да | да | нет данных |
| SPAM1-IDAF<br>(SEQ ID NO:84) | 433 | да | да | нет данных |
| SPAM1-CIDA<br>(SEQ ID NO:85) | 432 | да | да | нет данных |
| SPAM1-VCID<br>(SEQ ID NO:86) | 431 | да | да | нет данных |
| SPAM1-GVCI<br>(SEQ ID NO:87) | 430 | да | да | нет данных |
| SPAM1-DGVC<br>(SEQ ID NO:88) | 429 | да | да | нет данных |
| SPAM1-IADG<br>(SEQ ID NO:89) | 427 | да | да | нет данных |
| SPAM1-VCIA<br>(SEQ ID NO:90) | 425 | да | да | нет данных |
| SPAM1-VDVC<br>(SEQ ID NO:91) | 423 | да | да | нет данных |
| SPAM1-DAVD<br>(SEQ ID NO:92) | 421 | да | да | нет данных |
| SPAM1-DTDA<br>(SEQ ID NO:93) | 419 | да | да | нет данных |
| SPAM1-VKDT<br>(SEQ ID NO:94) | 417 | да | да | нет данных |
| SPAM1-ADVК<br>(SEQ ID NO:95) | 415 | да | да | нет данных |

#### ПРИМЕР 4

##### **Анализ растворимости укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы PH20 с помощью Тритон® X-114**

В этом примере, растворимость укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы PH20 оценивали с помощью анализа с Тритон® X-114. В данном анализе растворимая гиалуронидаза PH20 переходит в водную фазу раствора Тритон® X-114, нагретого до 37°C (модификация метода, как описано Bordier и др., (1981) J. Biol. Chem., 256:1604-7), тогда как заякоренная в мембране гиалуронидаза PH20 переходит в богатую детергентом фазу.

Для проведения анализа к 200 мкл культуральной среды или клеточного экстракта, полученного, как описано в Примере 3В выше, добавляли 2% (объем/объем) раствора Тритон® X-114 в PBS при 0°C, и образцы инкубировали на льду. Для разделения в пробирке для микроцентрифугирования образец наносили на 30 мкл сахарозной подложки (6% масса/объем), содержащей 0,06% Тритон® X-114 при температуре 4°C. Для разделения фаз образцы нагревали до 37°C в течение 3 минут и центрифугировали в течение 3 мин при 4000g при комнатной температуре. Водную и богатую детергентом фазы отбирали для анализа методом SDS-PAGE и Вестерн-блоттинг. В качестве первичных антител использовали кроличьи анти-PH20 IgG (0,5 мкг/мл), в качестве вторичных антител использовали HRP-конъюгаты козьих антител против IgG кролика (0,1 нг/мл, # DC03L, EMD). Полноразмерную человеческую PH20, которая распределяется преимущественно в богатую детергентом фазу, использовали в качестве контроля.

Результаты анализа растворимости укороченных с С-конца мутантов приведены в Таблице 5. Укороченные не менее чем до F500 с С-конца мутанты человеческой гиалуронидазы PH20 (предшественники приведены в SEQ ID NO: 7-13 и 48-49 и зрелые пептиды приведены в ID SEQ NO: 59-65 и 100-101) переходят в водную фазу и, следовательно, являются растворимыми. Укороченные не более чем до F500 с С-конца мутанты человеческой гиалуронидазы PH20 (SEQ ID NOS: 55-58 и 99) переходят в богатую детергентом фазу и не являются растворимыми. Полноразмерные PH20 также нерастворимы.

**Таблица 5.** Растворимость укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы PH20

| Мутант     | SEQ ID NO | Зрелый пептид<br>(аминокислот) | Растворимость |
|------------|-----------|--------------------------------|---------------|
| SPAM1-VASL | 108       | 474                            | нет           |
| SPAM1-SSVA | 55        | 472                            | нет           |
| SPAM1-IISS | 56        | 470                            | нет           |
| SPAM1-FLII | 57        | 468                            | нет           |
| SPAM1-LFLI | 99        | 467                            | нет           |
| SPAM1-ILFL | 58        | 466                            | нет           |
| SPAM1-SILF | 100       | 465                            | да            |
| SPAM1-VSIL | 59        | 464                            | да            |
| SPAM1-IVSI | 101       | 463                            | да            |
| SPAM1-FIVS | 60        | 462                            | да            |
| SPAM1-TMFI | 61        | 460                            | да            |
| SPAM1-SATM | 62        | 458                            | да            |
| SPAM1-TLSA | 63        | 456                            | да            |
| SPAM1-PSTL | 64        | 454                            | да            |
| SPAM1-STLS | 65        | 455                            | да            |

### ПРИМЕР 5

#### Гиалуронидазная активность укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы PH20

Гиалуронидазную активность укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы PH20 оценивали с применением микротитровального анализа с биотинилированной гиалуроновой кислотой (биотинилированная ГК или БГК). Гиалуронидазную активность укороченных с С-конца мутантов человеческой гиалуронидазы PH20 исследовали при pH 7,4 и pH 5,5.

В 4 х ВНХ 96-луночный планшет сорбировали биотинилированную ГК (1,1 МДа). Через 72 часа после трансфекции супернатант от клеток, трансфицированных укороченным с С-конца мутантом человеческой гиалуронидазы PH20, разводили в буфере с pH 7,4 или pH 5,5 и добавляли в отдельные лунки планшета, после чего инкубировали при 37°C в течение 90 минут. Реакцию останавливали добавлением 4М гуанидин-HCl. Для удаления расщепленной биотинилированной ГК лунки промывали 4 раза солевым фосфатным буферным раствором с Tween20 (PBST), затем в лунки добавляли стрептавидин-HRP и инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре. Лунки промывали 4 раза PBST, и планшет обрабатывали TMB. Оптическую плотность раствора в лунках планшета определяли при 450 нм с

помощью планшетного спектрофотометра для ИФА. Гиалуронидазную активность (в ед/мл) определяли путем интерполяции измеренного поглощения при 450 нм со стандартной кривой, полученной с использованием стандартного препарата гиалуронидазы. Полноразмерную зрелую человеческую гиалуронидазу PH20 и нетрансфицированные клетки CHO использовали в качестве положительного и отрицательного контроля.

Результаты представлены в Таблицах 6 и 6А ниже. Укороченные с С-конца до I430 или более мутанты человеческой гиалуронидазы PH20, соответствующие вариантам от SPAM1-GDVC до SPAM1-ADVК (SEQ ID NOS: 88-95), являются неактивными. Укороченные с С-конца до I498 (SEQ ID NO: 101), L499 (SEQ ID NO: 59), F500 (SEQ ID NO: 100), L501 (SEQ ID NO: 58) и I502 (SEQ ID NO: 99) мутанты человеческой гиалуронидазы PH20 обладают трудно обнаруживаемой активностью из-за низкого уровня экспрессии. Все остальные укороченные с С-конца мутанты человеческой гиалуронидазы PH20 (SEQ ID NOS: 55-57 и 60-87) проявляют гиалуронидазную активность при pH 7,4 и pH 5,5.

Таблица 6. Гиалуронидазная активность

| Мутант с делецией         | Предшественник (аминокислот) | Зрелый белок (аминокислот) | Активность при pH 7,4 (единиц/мл) | Активность при pH 5,5 (единиц/мл) |
|---------------------------|------------------------------|----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| SPAM1-SSVA (SEQ ID NO:55) | 507                          | 472                        | 1,4715                            | 1,125                             |
| SPAM1-IISS (SEQ ID NO:56) | 505                          | 470                        | 1,458                             | 0,837                             |
| SPAM1-FLII (SEQ ID NO:57) | 503                          | 468                        | 0,9405                            | 0,6345                            |
| SPAM1-ILFL (SEQ ID NO:58) | 501                          | 466                        | 0,0405                            | 0,0405                            |
| SPAM1-VSIL (SEQ ID NO:59) | 499                          | 464                        | 0,02025                           | 0,045                             |
| SPAM1-FIVS (SEQ ID NO:60) | 497                          | 462                        | 0,1755                            | 0,216                             |
| SPAM1-TMFI (SEQ ID NO:61) | 495                          | 460                        | 0,45                              | 0,612                             |
| SPAM1-SATM (SEQ ID NO:62) | 493                          | 458                        | 0,5715                            | 0,7335                            |
| SPAM1-TLSA (SEQ ID NO:63) | 491                          | 456                        | 0,3645                            | 0,5625                            |
| SPAM1-STLS (SEQ ID NO:65) | 490                          | 455                        | 0,819                             | 1,2375                            |
| SPAM1-PSTL (SEQ ID NO:64) | 489                          | 454                        | 1,557                             | 1,089                             |
| SPAM1-ASPS (SEQ ID NO:66) | 487                          | 452                        | 1,017                             | 0,9225                            |
| SPAM1-YNAS (SEQ ID NO:67) | 485                          | 450                        | 1,8765                            | 1,74825                           |

|                              |     |     |         |         |
|------------------------------|-----|-----|---------|---------|
| SPAM1-FYNA<br>(SEQ ID NO:68) | 484 | 449 | 1,4985  | 1,26225 |
| SPAM1-IFYN (SEQ<br>ID NO:69) | 483 | 448 | 2,45025 | 2,3085  |
| SPAM1-QIFY (SEQ<br>ID NO:70) | 482 | 447 | 2,03175 | 1,647   |
| SPAM1-PQIF (SEQ<br>ID NO:71) | 481 | 446 | 1,818   | 1,701   |
| SPAM1-EPQI (SEQ<br>ID NO:72) | 480 | 445 | 2,1825  | 1,6425  |
| SPAM1-EEPQ<br>(SEQ ID NO:73) | 479 | 444 | 1,917   | 2,0745  |
| SPAM1-TEEP (SEQ<br>ID NO:74) | 478 | 443 | 1,764   | 1,584   |
| SPAM1-ETEE (SEQ<br>ID NO:75) | 477 | 442 | 2,088   | 2,0475  |
| SPAM1-METE<br>(SEQ ID NO:76) | 476 | 441 | 1,332   | 1,278   |
| SPAM1-PMET<br>(SEQ ID NO:77) | 475 | 440 | 2,223   | 2,0925  |
| SPAM1-PPME<br>(SEQ ID NO:78) | 474 | 439 | 1,2105  | 1,341   |
| SPAM1-KPPM<br>(SEQ ID NO:79) | 473 | 438 | 0,8595  | 0,91575 |
| SPAM1-LKPP (SEQ<br>ID NO:80) | 472 | 437 | 0,5445  | 0,9     |
| SPAM1-FLKP (SEQ<br>ID NO:81) | 471 | 436 | 3,321   | 2,79    |
| SPAM1-AFLK<br>(SEQ ID NO:82) | 470 | 435 | 3,204   | 2,925   |
| SPAM1-DAFL<br>(SEQ ID NO:83) | 469 | 434 | 2,3895  | 2,2365  |
| SPAM1-IDAF (SEQ<br>ID NO:84) | 468 | 433 | 0,5625  | 0,62775 |
| SPAM1-CIDA (SEQ<br>ID NO:85) | 467 | 432 | 0,5535  | 0,4725  |
| SPAM1-VCID (SEQ<br>ID NO:86) | 466 | 431 | 0       | 0,2115  |
| SPAM1-GVCI (SEQ<br>ID NO:87) | 465 | 430 | 0,441   | 0,468   |
| SPAM1-DGVC<br>(SEQ ID NO:88) | 464 | 429 | 0       | 0,045   |
| SPAM1-IADG<br>(SEQ ID NO:89) | 462 | 427 | 0       | 0,00225 |
| SPAM1-VCIA (SEQ<br>ID NO:90) | 460 | 425 | 0       | 0,0135  |
| SPAM1-VDVC<br>(SEQ ID NO:91) | 458 | 423 | 0,0495  | 0,0585  |
| SPAM1-DAVD<br>(SEQ ID NO:92) | 456 | 421 | 0       | 0,0675  |
| SPAM1-DTDA<br>(SEQ ID NO:93) | 454 | 419 | 0       | 0,054   |
| SPAM1-VKDT<br>(SEQ ID NO:94) | 452 | 417 | 0,054   | 0,0225  |



|                               |            |            |        |          |
|-------------------------------|------------|------------|--------|----------|
| SPAM1-ADVК<br>(SEQ ID NO:95)  | 450        | 415        | 0,063  | 0,0405   |
| VASL<br>(SEQ ID NO:108)       | 509        | 474        | 1,8045 | 0,891    |
| VASL + PLC (SEQ<br>ID NO:108) | 509        | 474        | 3,96   | 2,313    |
| HZ24-PH20<br>(SEQ ID NO:109)  | 482        | 447        | 0,499  | 0,726188 |
| CHO-S                         | нет данных | нет данных | 0      | 0,012375 |

Таблица 6А. Гиалуронидазная активность

| Мутант с делецией             | Предшественник<br>(аминокислот) | Зревший белок<br>(аминокислот) | Активность при<br>рН 7,4<br>(единиц/мл) | Активность при<br>рН 5,5<br>(единиц/мл) |
|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|
| SPAM1-SSVA<br>(SEQ ID NO:55)  | 507                             | 472                            | 1,782                                   | 1,256                                   |
| SPAM1-IISS<br>(SEQ ID NO:56)  | 505                             | 470                            | 1,863                                   | 0,932                                   |
| SPAM1-FLII<br>(SEQ ID NO:57)  | 503                             | 468                            | 1,094                                   | 0,648                                   |
| SPAM1-LFLI<br>(SEQ ID NO:99)  | 502                             | 467                            | 0,608                                   | 0,324                                   |
| SPAM1-ILFL<br>(SEQ ID NO:58)  | 501                             | 466                            | 0,446                                   | 0,122                                   |
| SPAM1-SILF<br>(SEQ ID NO:100) | 500                             | 465                            | 0,365                                   | 0,162                                   |
| SPAM1-VSIL<br>(SEQ ID NO:59)  | 499                             | 464                            | 0,486                                   | 0,122                                   |
| SPAM1-IVSI<br>(SEQ ID NO:101) | 498                             | 463                            | 0,527                                   | 0,203                                   |
| SPAM1-FIVS<br>(SEQ ID NO:60)  | 497                             | 462                            | 0,365                                   | 0,162                                   |
| SPAM1-TMFI<br>(SEQ ID NO:61)  | 495                             | 460                            | 0,689                                   | 0,770                                   |
| SPAM1-SATM<br>(SEQ ID NO:62)  | 493                             | 458                            | 0,689                                   | 0,851                                   |
| SPAM1-TLSA<br>(SEQ ID NO:63)  | 491                             | 456                            | 0,851                                   | 0,729                                   |
| SPAM1-PSTL<br>(SEQ ID NO:64)  | 489                             | 454                            | 1,985                                   | 3,321                                   |
| SPAM1-ASPS<br>(SEQ ID NO:66)  | 487                             | 452                            | 1,134                                   | 1,580                                   |

**ПРИМЕР 6****Анализ гликана rHuPH20 с помощью LC-MS**

В этом примере с помощью масс-спектрального анализа расщепленного трипсином PH20 исследовали гликаны rHuPH20 (SEQ ID NO: 122).

rHuPH20 (полученный, как описано в Примере 15С) лиофилизировали и ресуспендировали в буфере, содержащем 6М гуанидин-НСl, 0,002 М ЭДТА и 0,02 М Трис, с рН 8,28 до конечной концентрации 0,5 мг/мл. К раствору добавляли DTT

(конечная концентрация 10 мМ) и смесь белок/DTT инкубировали в течение 1 часа при температуре 37°C. После восстановления к раствору добавляли иодацетамид до конечной концентрации 20 мМ. Наконец, к раствору добавляли трипсин (1:25 по массе) и смесь инкубировали в течение 20 часов при температуре 37°C.

Расщепленный трипсином препарат анализировали методом LC-MS. Расщепленный трипсином препарат загружали на обратнофазную колонку C18, как описано в Таблице 7 ниже. Данные анализа MS получали с помощью масспектрометра Q-TOF Ultima с ионизацией электрораспылением (ESI) в режиме положительно заряженных ионов. Данные получали для  $m/z$  200 – 1950 в режиме MS. Для определения типа гликана гликопептиды анализировали с помощью программного обеспечения GlycoMod ([www.expasy.ch/tools/glycomod/](http://www.expasy.ch/tools/glycomod/)).

Таблица 7. Параметры и настройки LC-MS

| Параметры                     | Настройки                                                 |      |      |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------|------|------|
| Колонка                       | Phenomenex Synergi Hydro-RP                               |      |      |
| Температура колонки           | 30°C                                                      |      |      |
| Подвижная фаза А              | деионизированная вода, содержащая 0,2% муравьиной кислоты |      |      |
| Подвижная фаза В              | ацетонитрил, содержащий 0,2% муравьиной кислоты           |      |      |
| Градиент                      | время (мин)                                               | %А   | %В   |
|                               | 0,0                                                       | 97,0 | 3,0  |
|                               | 5,0                                                       | 97,0 | 3,0  |
|                               | 144,0                                                     | 60,0 | 40,0 |
|                               | 150,0                                                     | 10,0 | 90,0 |
|                               | 160,0                                                     | 10,0 | 90,0 |
|                               | 161,0                                                     | 97,0 | 3,0  |
|                               | 180,0                                                     | 97,0 | 3,0  |
| Скорость потока через колонку | 0,2 мл/мин                                                |      |      |
| Объем нанесения               | 5 мкл                                                     |      |      |
| Время разделения (общее)      | 180 минут                                                 |      |      |

Человеческая гиалуронидаза PH20 имеет один сайт О-гликозилирования в положении T475. Сайт занимает коровый гликан 1 типа, включающий один или два остатка сиаловой кислоты. гHuPH20 гликозилирован по шести различным остаткам аспарагина, N82, N166, N235, N254, N368 и N393. Результаты исследования показывают, что положение N254 занято гликаном приблизительно в 75% случаев, N393 занято приблизительно в 85%, а четырех оставшихся положений, N82, N166, N235 и N368, заняты более чем в 99% случаев. В гHuPH20 присутствуют все три типа N-гликанов, то есть богатые маннозой, гибридные и сложные гликаны. Как правило, гHuPH20 содержит приблизительно 45% богатых маннозой гликанов, 45%

сложных гликанов и 10% гибридных гликанов. Приблизительно 35% всех гликанов являются анионными, 25% из которых содержат сиаловую кислоту, а оставшиеся 10% содержат неизвестные анионные группы, возможно, фосфатные группы. Большая часть сложных гликанов фукозилированы, анионные сложные гликаны в основном содержат один остаток сиаловой кислоты, в то время как некоторые из них содержат два остатка сиаловой кислоты. Каждый остаток аспарагина замещен приблизительно в 90% случаев гликаном одного типа и редко гликанами двух других типов, за исключением N235. Основные типы гликанов для каждого остатка приведены в Таблице 8 ниже. Остатки N82, N166 и N254 заняты сложными гликанами. Остатки N368 и N393 заняты богатыми маннозой гликанами. Остаток N235 занят приблизительно в 80% случаев богатыми маннозой гликанами и приблизительно в 20% случаев сложными гликанами.

**Таблица 8.** Типы N-гликанов аспарагиновых остатков гHuPH20

| Сайт гликозилирования | Богатые маннозой гликаны | Сложные гликаны |
|-----------------------|--------------------------|-----------------|
| N82                   |                          | X               |
| N166                  |                          | X               |
| N235                  | ~ 80%                    | ~ 20%           |
| N254                  |                          | X               |
| N368                  | X                        |                 |
| N393                  | X                        |                 |

### ПРИМЕР 7

#### Дегликозилирование человеческой гиалуронидазы PH20 с помощью обработки эндогликозидазой

В этом примере человеческую гиалуронидазу PH20 дегликозилировали, обрабатывая очищенную гHuPH20 (SEQ ID NO: 122) различными гликозидазами и оценивая гиалуронидазную активность. Человеческая гиалуронидаза PH20 гликозилирована по шести различным остаткам аспарагина, N82, N166, N235, N254, N368, и N393. Для получения дегликозилированных человеческих гиалуронидаз PH20 применяли пять гликозидаз, включая ПНГазуF (New England Biolabs, номер по каталогу P0704S, лот #34), которая расщепляет все N-гликаны; EndoF1, которая расщепляет богатые маннозой и гибридные гликаны; EndoF2, которая расщепляет биантенные сложные гликаны; EndoF3, которая расщепляет биантенные и более разветвленные сложные гликаны, и EndoH (New England Biolabs, номер по каталогу P0702S), которая расщепляет богатые маннозой и гибридные гликаны. Таким

образом, обработка ПНГазойF приводит к полному дегликозилированию пептида, в то время как обработка эндогликозидазами приводит к лишь частичному дегликозилированию.

Для полного дегликозилирования очищенную rHuPH20 (конечная концентрация 0,1 мг/мл) инкубировали с ПНГазойF (50000 ед/мл) в 50 мМ фосфатном буфере с pH 7,2 в течение ночи при температуре 37°C. Для частичного дегликозилирования очищенную rHuPH20 (конечная концентрация 0,5 мг/мл) инкубировали с 0,3 ед/мл эндогликозидазы (EndoF1, EndoF2, EndoF3 или EndoH) или смесью всех четырех эндогликозидаз в 50 мМ натрий-ацетатном буфере с pH 5,0 в течение ночи при 35°C. Дегликозилирование rHuPH20 оценивали по изменению подвижности PH20 в SDS-PAGE. Ферментативную активность гиалуронидазы определяли, как описано в Примере 5.

Молекулярная масса человеческой гиалуронидазы PH20 составляет приблизительно 66 кДа. Обработка EndoF1, EndoH или смесью EndoF1, EndoF2, EndoF3 и EndoH привела к частичному дегликозилированию человеческой гиалуронидазы PH20, которое оценивали по изменению подвижности белка в SDS-PAGE до кажущейся молекулярной массы приблизительно 56 кДа. Обработка ПНГазойF привела к полному дегликозилированию человеческой гиалуронидазы PH20. Частичное дегликозилирование rHuPH20 не привело к инактивации гиалуронидазы, в то время как полное расщепление ПНГазойF, полностью удаляющее N-гликаны, привело к полной потере ферментативной гиалуронидазной активности (см. Таблицу 9 ниже).

Таблица 9. Эффект обработки гликозидазой на активность rHuPH20

| rHuPH20<br>(ед/мл) | контроль<br>PH20 | EndoF1 | EndoF2 | EndoF3 | EndoH  | EndoF1,F2,F3,H | ПНГазоF |
|--------------------|------------------|--------|--------|--------|--------|----------------|---------|
| 1,0000             | 0,3195           | 0,2983 | 0,2573 |        | 0,2965 | 0,2144         | 1,9315  |
| 0,2000             | 0,7910           | 0,7656 | 0,6048 | 0,5880 | 0,7435 | 0,5366         | 1,9173  |
| 0,0400             | 1,4299           | 1,3450 | 1,3117 | 1,2255 | 1,3584 | 1,3877         | 1,9926  |
| 0,0080             | 1,8397           | 1,7338 | 1,6900 | 1,6698 | 1,6998 | 1,8418         | 1,9172  |

## ПРИМЕР 8

### Обработка человеческой гиалуронидазы RH20 ингибиторами гликозилирования

rHuRH20 (SEQ ID NO: 122) временно экспрессировали в присутствии каждого из двух ингибиторов гликозилирования, после чего оценивали секрецию и активность гиалуронидазы. Кифунензин является мощным ингибитором участвующего в процессинге гликанов фермента маннозидазы I (см., например, Elbein и др., J Biol Chem, 265: 15599-15605 (1990)). Туникамицин представляет собой смесь гомологичных нуклеозидных антибиотиков, которые ингибируют фермент GlcNAc-фосфотрансферазу (GPT), тем самым блокируя синтез всех N-гликанов (см., например, Böhme et al., Eur. J. Biochem. 269:977-988 (2002)).

$1 \times 10^6$  HZ24-2B2 экспрессирующих rHuRH20 клеток (см. Пример 14 ниже) высевали в 24 мл полной CD-CHO среды в два 125 мл флакона. Туникамицин (растворенный в ДМСО) или кифунензин (свежий водный раствор) добавляли до конечной концентрации 5 мкг/мл (содержание ДМСО 12 мкл). В качестве контроля в один флакон высевали  $1 \times 10^6$  HZ24-2B2 клеток, экспрессирующих rHuRH20, и к содержимому добавляли 12 мкл ДМСО. После добавления туникамицина или кифунензина клетки инкубировали в течение 4-6 часов при температуре 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. После экспрессии 2 мл культуральной среды отбирали и центрифугировали в течение 5 минут при 500 g. Супернатант хранили при температуре 4°C, клеточный осадок хранили при температуре -20°C. Оставшиеся 22 мл культуры центрифугировали в течение 5 минут при 500 g. Супернатант хранили при 4°C. Клетки ресуспендировали в 22 мл полной CD-CHO среды в двух исходных 125 мл флаконах. Туникамицин или кифунензин добавляли в культуральную среду до конечной концентрации 5 мкг/мл и инкубировали при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Приблизительно через каждые 24 часа после замены среды из каждой колбы отбирали два мл (2 мл) культуры. Для каждой временной точки супернатант хранили при температуре 4°C, а клеточный осадок при температуре -20°C. Экспрессию rHuRH20 анализировали методом Вестерн-блоттинг, а гиалуронидазную активность измеряли с помощью анализа с биотинилированной ГК (как описано в Примерах 3 и 5 выше).

Результаты представлены в Таблицах 10-13 ниже, где приведены количество жизнеспособных клеток и активность RH20. Как показано в Таблицах 10-11, туникамицин ингибирует активность RH20 в культуральной среде и внутри клеток, а также приводит к полной потере жизнеспособности клеток. Кроме того, один час

обработки туникамицином приводит к накоплению дегликозилированной человеческой гиалуронидазы PH20 внутри клеток, определенному по изменению подвижности белка из фракций клеточного осадка в SDS-PAGE до кажущейся молекулярной массы приблизительно 56 кДа. Как показано в Таблицах 12-13, кифунензин не влияет на активность PH20, в то время как анализ методом Вестерн блоттинг показал, что кифунензин тормозит экспрессию и секрецию gNuPH20 в обработанных им клетках.

**Таблица 10.** Влияние туникамицина на жизнеспособность клеток и активность PH20 в культуральной среде

| Время (часы) | В присутствии туникамицина              |                         | Без туникамицина                        |                         |
|--------------|-----------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------|-------------------------|
|              | жизнеспособные клетки ( $\times 10^6$ ) | Активность PH20 (ед/мл) | жизнеспособные клетки ( $\times 10^6$ ) | Активность PH20 (ед/мл) |
| 0            | 1,04                                    | 0,50                    | 1,04                                    | 0,00                    |
| 1            | 1,04                                    | 2,80                    | 1,04                                    | 1,50                    |
| 2            | 1,04                                    | 5,00                    | 1,04                                    | 3,00                    |
| 4            | 0,910                                   | 8,80                    | 1,30                                    | 7,00                    |
| 25           | 1,08                                    | 5,80                    | 1,32                                    | 82,50                   |
| 49           | 0,200                                   | 6,80                    | 2,72                                    | 171,30                  |
| 73           | 0,080                                   | 7,80                    | 3,80                                    | 331,00                  |
| 91           | 0                                       | 7,50                    | 6,25                                    | 313,30                  |

**Таблица 11.** Влияние туникамицина на жизнеспособность клеток и активность PH20 в клеточном осадке

| Время (часы) | В присутствии туникамицина              |                         | Без туникамицина                        |                         |
|--------------|-----------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------|-------------------------|
|              | жизнеспособные клетки ( $\times 10^6$ ) | Активность PH20 (ед/мл) | жизнеспособные клетки ( $\times 10^6$ ) | Активность PH20 (ед/мл) |
| 0            | 1,04                                    | 34,50                   | 1,04                                    | 35,00                   |
| 1            | 1,04                                    | 38,00                   | 1,04                                    | 38,10                   |
| 2            | 1,04                                    | 34,00                   | 1,04                                    | 36,60                   |
| 4            | 0,910                                   | 18,00                   | 1,30                                    | 31,90                   |
| 25           | 1,08                                    | 1,00                    | 1,32                                    | 14,40                   |
| 49           | 0,200                                   | 0,80                    | 2,72                                    | 33,10                   |
| 73           | 0,080                                   | 0,30                    | 3,80                                    | 67,50                   |
| 91           | 0                                       | 0,30                    | 6,25                                    | 79,40                   |

**Таблица 12.** Влияние кифунензина на жизнеспособность клеток и активность РН20 в культуральной среде

| Время<br>(часы) | В присутствии кифунензина                  |                            | Без кифунензина                            |                            |
|-----------------|--------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------------|----------------------------|
|                 | жизнеспособные<br>клетки ( $\times 10^6$ ) | Активность<br>РН20 (ед/мл) | жизнеспособные<br>клетки ( $\times 10^6$ ) | Активность<br>РН20 (ед/мл) |
| 0               | 1                                          | 0,4                        | 1                                          | 0,45                       |
| 6               | 1                                          | 23,85                      | 1                                          | 15,75                      |
| 24              | 1,2                                        | 129,6                      | 1,4                                        | 75,6                       |
| 50              | 2,1                                        | 299,7                      | 2,4                                        | 206,55                     |
| 72              | 3                                          | 535,95                     | 4,4                                        | 444,15                     |
| 96              | 3,7                                        | 945                        | 6,3                                        | 726,3                      |
| 144             | 5,8                                        | 2968,65                    | 8,5                                        | 2241                       |

**Таблица 13.** Влияние кифунензина на жизнеспособность клеток и активность РН20 в клеточном осадке

| Время<br>(часы) | В присутствии кифунензина                  |                            | Без кифунензина                            |                            |
|-----------------|--------------------------------------------|----------------------------|--------------------------------------------|----------------------------|
|                 | жизнеспособные<br>клетки ( $\times 10^6$ ) | Активность<br>РН20 (ед/мл) | жизнеспособные<br>клетки ( $\times 10^6$ ) | Активность<br>РН20 (ед/мл) |
| 0               | 1                                          | 22,25                      | 1                                          | 23                         |
| 6               | 1                                          | 21,25                      | 1                                          | 27                         |
| 24              | 1,2                                        | 27,75                      | 1,4                                        | 14,45                      |
| 50              | 2,1                                        | 43                         | 2,4                                        | 26                         |
| 72              | 3                                          | 98,75                      | 4,4                                        | 52,75                      |
| 96              | 3,7                                        | 208,75                     | 6,3                                        | 167,5                      |
| 144             | 5,8                                        | 497,25                     | 8,5                                        | 107                        |

### ПРИМЕР 9

#### Транзиентная экспрессия гHuРН20 в устойчивых к лектину мутантах СНО

гHuРН20 временно экспрессировали в четырех устойчивых к лектину мутантах СНО и оценивали секрецию и активность гиалуронидазы. Характеристики устойчивых к лектину мутантов СНО приведены в Таблице 14 ниже. В клетках Pro<sup>5</sup> отсутствует галактозилтрансфераза  $\beta$ 4galT-6, что приводит к уменьшению количества галактозилированных N-гликанов (см., например, Lee и др., *J. Biol. Chem.* 276: 13924-13934 (2001)). В клетках Lec1 отсутствует активность N-ацетилглюкозаминилтрансферазы I, и, следовательно, клетки не синтезируют сложные или гибридные гликаны (см., например, Chen и Stanley, *Glycobiology*, 13:43-50 (2003)). В клетках Lec2 и Lec8 отсутствуют переносчики сахаронуклеотидов, которые переносят сахаронуклеотиды через мембрану ЭР или аппарата Гольджи.

Клетки Lec2 не способны к транслокации СМР-сиаловой кислоты (а именно СМР-NeuAc), поэтому на поверхности клетки экспрессируются асиалированные белки (см., например, Eckhardt et al., *J. Biol. Chem.* 273:20189-20195 (1998)). Клетки Lec8 не способны к транслокации UDP-галактозы, поэтому в гликанах этих клеток отсутствует галактоза (см., например, Bakker et al., *Glycobiology*, 15:193-201 (2005)).

Таблица 14. устойчивые к лектину мутанты CHO

| Линия клеток CHO | Биохимическое изменение                                        | Генетическое изменение             |
|------------------|----------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| Pro <sup>5</sup> | ↓ Gal в N-гликанах                                             | Нет экспрессии <i>β4galt6</i>      |
| Lec1             | ↓ GlcNAc-T I                                                   | вставка/делеция в OPC <i>Mgat1</i> |
| Lec2             | ↓ транспортер СМР-сиаловой кислоты в мембране аппарата Гольджи | Мутация в OPC <i>Slc35a1</i>       |
| Lec8             | ↓ UDP-Gal транспортер в мембране аппарата Гольджи              | Мутация в OPC <i>Slc35a2</i>       |

PH20 His (PH20 с His-меткой, SEQ ID NO: 187) транзиечно экспрессировали в каждом из четырех штаммов устойчивых к лектину мутантов CHO, Lec1 (№ CRL-1735, ATCC), Lec2 (№ CRL -1736, ATCC), Lec8 (№ CRL-1737, ATCC) и Pro<sup>5</sup> (№ CRL-1781), как описано в Примере 2А выше. Кроме того, в клетках Pro<sup>5</sup> транзиечно экспрессировали HZ24-Mut(B/S) (плазмида кодирует укороченный до 482 аминокислоты PH20, SEQ ID NO: 122), и в качестве отрицательного контроля Pro<sup>5</sup> клетки подвергали процедуре трансфекции без плазмиды. Полученную культуральную среду анализировали методом Вестерн-блоттинг, гиалуронидазную активность измеряли с помощью анализа с биотинилированной ГК (как описано в Примерах 3 и 5 выше).

Результаты показывают, что экспрессируемые в Lec мутантах rHuPH20 секретируются в среду, о чем свидетельствует полоса, соответствующая белку с массой приблизительно 66 кДа. Результаты анализа ферментативной активности с БГК приведены в Таблице 15 ниже, где указаны устойчивые к лектину мутанты CHO, используемые для трансфекции клеток кодирующие PH20 плазмиды и активности PH20 при pH 5,5 для разведений 1 : 27 и 1 : 81. Экспрессированный в Lec мутантных клетках rHuPH20 является ферментативно активным.



**Таблица 15.** Активность PH20 (ед/мл) транзиечно экспрессированной в Lec мутантных клетках gHuPH20.

| Устойчивый к лектину мутант | Pro-5         | Pro-5         | Lec1          | Lec2          | Lec8          | Pro-5                    |
|-----------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------------------|
| Плазмида                    | HZ24-mut(B/S) | HZ24-PH20 His | HZ24-PH20 His | HZ24-PH20 His | HZ24-PH20 His | Трансфекция без плазмиды |
| Активность PH20 (1:27)      | 0,6615        | 0,297         | 0,54          | 0,675         | 0,2565        | 0,081                    |
| Активность PH20 (1:81)      | 1,1745        | 0,6075        | 0,7695        | 1,053         | 0,567         | 0,1215                   |

### ПРИМЕР 10

#### Сайт-направленный мутагенез сайтов N-гликозилирования в человеческой гиалуронидазе PH20

Получены дегликозилированные сайт-специфические мутанты человеческой гиалуронидазы PH20 по сайтам N-гликозилирования и были оценены их паттерны секреции и ферментативная гиалуронидазная активность. Дегликозилированные сайт-специфические мутанты по сайтам N-гликозилирования и типы их гликанов описаны в Таблице 16 ниже.

В качестве матрицы для мутагенеза каждого остатка аспарагина на аланин использовали PH20 His (SEQ ID NO: 210) и применяли набор для сайт-направленного мутагенеза QuikChange® (номер по каталогу 200518, Stratagene). Кодированный ДНК-матрицей белок соответствует PH20 His (SEQ ID NO: 187), клону человеческой PH20, который содержит гексагистидиновую метку (SEQ ID NO: 142) после аминокислоты S490. PH20 His дикого типа и дегликозилированные мутанты приведены в Таблице 16. Были получены шесть вариантов с одной мутацией, по одному для каждого сайта N-гликозилирования. Кроме того, для аспарагинов N82, N166 и N254, каждый из которых замещен сложным гликаном, было создано три двойных мутантов и тройной мутант. Наконец, был получен двойной мутант N368A/N393A, в котором отсутствуют богатые маннозой гликаны. Мутанты трансфицировали в CHO-S клетки и белки экспрессировали, как описано в Примере 2А. Секрецию в среду и гиалуронидазную активность определяли, как описано в Примерах 3 и 5 выше.

Результаты представлены в Таблице 16 ниже, в которой указаны мутации, типы гликанов, наличие секреции белка в среду и гиалуронидазная активность при pH 5,5 и pH 7,4. Вестерн-блоттинг анализ показал, что мутация остатков N82, N166, N235 и N254 не влияет на секрецию белка gHuPH20 в среду. Мутация остатков

N368A и N368A/N393A предотвращает экспрессию и секрецию PH20, о чем свидетельствует отсутствие белка с молекулярной массой приблизительно 66 кДа в среде. Мутация остатка N393A приводит к снижению экспрессии белка, но rHuPH20 обнаруживается в среде, о чем свидетельствует полоса, соответствующая белку с массой приблизительно 66 кДа. Мутация остатков N82, N166 и/или N254 не влияет на активность rHuPH20. Эти остатки заняты сложными гликанами. Напротив, мутация остатков N235, N368 и/или N393, которые содержат богатые маннозой гликаны, приводит к полной потере обнаруживаемой активности в среде из-за отсутствия секреции.

**Таблица 16.** Дегликозилированные мутанты человеческой гиалуронидазы PH20

| мутант              | SEQ ID NO | Тип гликана                             | Секреция    | Активность при pH 5,5 | Активность при pH 7,4 |
|---------------------|-----------|-----------------------------------------|-------------|-----------------------|-----------------------|
| PH20 His (исходный) | 187       | оба типа                                | да          | да                    | да                    |
| N82A                | 202       | сложный                                 | да          | да                    | да                    |
| N166A               | 203       | сложный                                 | да          | да                    | да                    |
| N235A               | 204       | богатый маннозой (80%)<br>сложный (20%) | да          | нет                   | нет                   |
| N254A               | 205       | сложный                                 | да          | да                    | да                    |
| N368A               | 188       | богатый маннозой                        | нет         | нет                   | нет                   |
| N393A               | 189       | богатый маннозой                        | да (слабая) | нет                   | нет                   |
| N82A/N166A          | 206       | сложный                                 | да          | да                    | да                    |
| N82A/N254A          | 207       | сложный                                 | да          | да                    | да                    |
| N166A/N254A         | 208       | сложный                                 | да          | да                    | да                    |
| N82A/N166A/N254A    | 209       | сложный                                 | да          | да                    | да                    |
| N368A/N393A         | 190       | богатый маннозой                        | нет         | нет                   | нет                   |

Для визуализации экспрессии дегликозилированных сайт-специфических мутантов по сайтам N-гликозилирования N368A, N393A и N368A/N393A использовали иммуофлуоресцентный анализ клеток CHO с анти-PH20 антителами. Для получения монослойной культуры клетки CHO высевали в 8-луночные камеры для микроскопирования по 200 мкл клеток с концентрацией  $2,5 \times 10^4$  клеток на миллилитр модифицированной Дульбеко среды Игла (DMEM), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки (FBS), и выращивали при 37°C в увлажненной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>. Клетки трансфицировали через 36 часов при плотности моно слоя 80% с помощью Lipofectamine™ 2000 (Invitrogen) следующим образом.

ДНК (0,4 мкг в 50 мкл DMEM без сыворотки) и Lipofectamine™ 2000 (1 мкл в DMEM без сыворотки) осторожно смешивали в течение 20 минут при комнатной температуре, а затем добавляли в каждую лунку, содержащую клетки и 100 мкл бессывороточной среды. Перемешивание производили осторожно, покачивая планшет назад и вперед. Затем клетки инкубировали при 37°C в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 4-6 часов, после чего бессывороточную среду заменяли на содержащую 10% FBS среду. Через 48 часов после трансфекции клетки в камерах для микроскопирования фиксировали 4% параформальдегидом в течение 15 минут. Клетки промывали 3 раза PBS, к ним добавляли 200 мкл 1% раствора NP-40/PBS и инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре. Клетки промывали 3 раза PBS и хранили при 4°C до окрашивания антителами.

Для окрашивания антителами клетки образцы блокировали 15% нормальной козьей сывороткой в течение 30 минут при комнатной температуре. Клетки инкубировали в течение 2 часов с 1 : 20 раствором анти-PH20 IgG кролика, разведенным 5% нормальной козьей сывороткой в PBS. Наконец, клетки отмывали 3 раза PBS, затем в течение 1 часа инкубировали с FITC-конъюгированными козьими антителами к IgG кролика для последующей визуализации. Кроме того, раствор для фиксации содержал DAPI для окрашивания ядер. Иммунофлуоресцентный анализ с применением анти-PH20 антител показал, что мутации N368A и N393A вызывают накопление PH20 внутри клеток.

### **Выводы из исследований N-гликозилирования**

Как продемонстрировано в Примерах 7-10 выше, N-гликозилирование является необходимым для фолдинга и ферментативной активности гHuPH20. Полное дегликозилирование гHuPH20, достигаемое исчерпывающим расщеплением PNGазойF или ингибированием гликозилирования туникамицином в процессе биосинтеза, приводит к потере ферментативной активности. Кроме того, было показано накопление негликозилированного гHuPH20 в клетке. Напротив, частично дегликозилированная гHuPH20, получаемая обработкой кифунензином или экспрессией в Лес мутантах, сохраняет ферментативную активность. Наконец, детальный мутационный анализ с помощью сайт-направленного мутагенеза показал, что наличие богатых маннозой гликанов необходимо для получения растворимой, ферментативно активной гHuPH20.

### ПРИМЕР 11

#### Получение клеточной линии, экспрессирующей растворимую gHuPH20

Плазмиду HZ24 (приведенную в SEQ ID NO: 140) использовали для трансфекции клеток яичника китайского хомячка (CHO клеток) (см., например, заявки США №№ 10,795,095, 11/065,716 и 11/238,171). Плазмидный вектор HZ24 для экспрессии растворимой gHuPH20 содержит основу вектора PCI (Promega), ДНК, кодирующую аминокислоты 1-482 человеческой гиалуронидазы PH20 (SEQ ID NO: 110), внутренний сайт посадки рибосомы (IRES) вируса ECMV (Clontech) и ген дигидрофолатредуктазы мыши (DHFR). Вектор PCI также включает в себя ДНК, кодирующую ген бета-лактамазы (AmpR), точку начала репликации fl, немедленный ранний энхансерный/промоторный район цитомегаловируса (CMV), химерный интрон и поздний сигнал полиаденилирования вируса SV40 (SV40). Конструкция ДНК, кодирующая растворимую gHuPH20, содержит сайт NheI и консенсусную последовательность Козака до последовательности ДНК, кодирующей метионин в положении 1 нативной сигнальной последовательности PH20 человека из 35 аминокислот, и стоп-кодон после ДНК, кодирующей тирозин, соответствующий аминокислотной позиции 482 человеческой гиалуронидазы PH20, приведенной в SEQ ID NO: 107, после которого расположен сайт рестрикции BamHI. Следовательно, направляемая промотором CMV транскрипция конструкции PCI-PH20-IRES-DHFR-SV40ra (HZ24) приводит к молекуле мРНК, которая кодирует аминокислоты 1-482 PH20 человека (приведена в SEQ ID NO: 109) и аминокислоты 1-186 дигидрофолатредуктазы мыши (приведены в SEQ ID NO: 141), разделенные внутренним сайтом посадки рибосомы (IRES).

Не трансфицированные клетки DG44 CHO культивировали в модифицированной GIBCO CD-CHO среде для DHFR(-) клеток, дополненной 4 мМ глутамина и 18 мл/л плюроника F68/L (Gibco), и для подготовки к трансфекции высевали при концентрации  $0,5 \times 10^6$  клеток/мл во встряхиваемый флакон. Клетки культивировали при 37°C и 5% CO<sub>2</sub> в увлажненном инкубаторе при скорости перемешивания 120 оборотов в минуту. Экспоненциально растущие не трансфицированные клетки DG44 CHO проверяли на жизнеспособность до трансфекции.

Шестьдесят миллионов жизнеспособных клеток из культуры не трансфицированных клеток DG44 CHO осаждали и ресуспендировали до плотности  $2 \times 10^7$  клеток в 0,7 мл 2× буфера для трансфекции (2× HeBS: 40 Hepes мМ, pH 7,0, 274 мМ NaCl, 10 мМ KCl, 1,4 мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 12 мМ декстроза). К каждой аликвоте

ресуспендированных клеток добавляли 0,09 мл (250 мкг) линейной плазмиды HZ24 (линеаризовали в течение ночи эндонуклеазой Cla I (New England Biolabs), и смесь клетки/ДНК переносили в кюветы для электропорации ВТХ (Gentronics) с зазором 0,4 см при комнатной температуре. Для отрицательного контроля проводили электропорацию клеток без плазмидной ДНК. Смесь клетки/плазмида электропорировали разрядом конденсатора при 330 В и 960 мкФ или при 350 В и 960 мкФ.

Клетки переносили из кюветы после электропорации в 5 мл модифицированной среды CD-CHO для DHFR(-) клеток, дополненной 4 мМ глутамина и 18 мл/л плюроника F68/L (Gibco), и культивировали в лунках 6-луночных планшетов для культивирования без селекции в течение 2 дней при 37°C и 5% CO<sub>2</sub> в увлажненном инкубаторе.

Через два дня после электропорации из каждой лунки отбирали 0,5 мл культуральной среды и проверяли ее на наличие гиалуронидазной активности с помощью анализа микромутности, описанного в Примере 12. Результаты представлены в Таблице 17.

Таблица 17. Начальная гиалуронидазная активность трансфицированных HZ24 клеток DG44 CHO через 40 часов после трансфекции

|                         | Разведение | Активность<br>ед/мл |
|-------------------------|------------|---------------------|
| Трансфекция 1 при 330 В | 1 к 10     | 0,25                |
| Трансфекция 2 при 350 В | 1 к 10     | 0,52                |
| Отрицательный контроль  | 1 к 10     | 0,015               |

Клетки из трансфекции 2 (350 В) отбирали из культуральной лунки, подсчитывали и разбавляли до  $1 \times 10^4$  -  $2 \times 10^4$  жизнеспособных клеток на 1 мл. Аликвоту суспензии клеток 0,1 мл переносили в каждую лунку пяти 96-луночных планшетов для культивирования с круглодонными лунками. В лунки с клетками добавляли сто микролитров среды CD-CHO (GIBCO), дополненной 4 мМ GlutaMAX™-1 (GIBCO™, Invitrogen Corporation) и не содержащей гипоксантина и тимидина (конечный объем 0,2 мл).

Из 5 планшетов были выделены десять клонов, выращиваемых без метотрексата (Табл. 18).

**Таблица 18.** Гиалуронидазная активность идентифицированных клонов

| Номер планшета и лунки | Относительная гиалуронидазная активность |
|------------------------|------------------------------------------|
| 1C3                    | 261                                      |
| 2C2                    | 261                                      |
| 3D3                    | 261                                      |
| 3E5                    | 243                                      |
| 3C6                    | 174                                      |
| 2G8                    | 103                                      |
| 1B9                    | 304                                      |
| 2D9                    | 273                                      |
| 4D10                   | 302                                      |

Шесть клонов HZ24 дополнительно культивировали и переносили во флаконы в виде суспензии отдельных клеток. Клоны 3D3, 3E5, 2G8, 2D9, 1E11 и 4D10 высевали в 96-луночные планшеты для культивирования с круглодонными лунками методом двумерного бесконечного разведения, при котором клетки разводили 1 : 2 в лунках планшета сверху вниз и 1 : 3 в лунках планшета слева направо, начиная с 5000 клеток в верхней левой ячейке. Для обеспечения необходимых факторов роста в первые дни роста в культуре разведенные суспензии клонов культивировали в присутствии 500 не трансфицированных DG44 CHO клеток на лунку. Для каждого субклона было заполнено десять планшетов, где 5 планшетов содержали 50 нМ метотрексата и 5 планшетов не содержали метотрексат.

Клон 3D3 дал 24 визуально определенных субклона, 13 из которых обнаружены в планшетах без метотрексата, а 11 - в планшетах с 50 нМ метотрексата. Значительную гиалуронидазную активность определили в супернатантах 8 из 24 субклонов ( $> 50$  ед/мл), указанные 8 субклонов наращивали во флаконах для культивирования T-25. Идентифицированные в присутствии метотрексата клоны культивировали с добавлением 50 нМ метотрексата. Клон 3D35M растили в присутствии 500 нМ метотрексата, что привело к получению клона, продуцирующего при культивировании во флаконе при перемешивании свыше 1000 единиц/мл гиалуронидазы (клон 3D35M или Gen1 3D35M). Затем был получен банк клеток 3D35M.

## ПРИМЕР 12

### Определение гиалуронидазной активности растворимой rHuPH20

Гиалуронидазную активность растворимой rHuPH20 определяли в таких образцах, как клеточные культуры, очищенные фракции и очищенный раствор, с

помощью турбидометрического анализа, который основан на образовании нерастворимого осадка при связывании гиалуроновой кислоты с сывороточным альбумином. Активность измеряли путем инкубации растворимой гHuPH20 с гиалуронатом натрия (гиалуроновой кислотой) в течение определенного периода времени (10 минут) с последующим осаждением нерасщепленного гиалуроната натрия при добавлении подкисленного сывороточного альбумина. Мутность полученного образца измеряли при 640 нм после 30-минутной инкубации. Уменьшение мутности в результате ферментативной активности гиалуронидазы к своему субстрату гиалуронату натрия является мерой активности растворимой гиалуронидазы гHuPH20. Анализ проводят с помощью калибровочной кривой, полученной с использованием разведений стандарта растворимой гHuPH20, определение активности образцов проводили относительно этой калибровочной кривой.

Образцы разбавляли с помощью раствора для разведения фермента. Раствор для разведения фермента готовили, растворяя  $33,0 \pm 0,05$  мг гидролизованного желатина в 25,0 мл 50 мМ реакционного буфера PIPES (140 мМ NaCl, 50 мМ PIPES, pH 5,5) и 25,0 мл SWFI, и разбавляя 0,2 мл 25% раствора человеческого сывороточного альбумина в полученной смеси и перемешивая на вортексе раствор в течение 30 секунд. Раствор готовили за 2 часа до применения и хранили его на льду до использования. Образцы разводили до приблизительно 1-2 ед/мл. Как правило, максимальное шаговое разведение не превышало 1 : 100 и начальный объем образца для первого разведения составлял не менее 20 мкл. Минимальные объемы образцов, необходимые для проведения анализа, для образцов, полученных в ходе выделения, и фракций FPLC (жидкостная хроматография быстрого разрешения) составляли 80 мкл; для культурального супернатанта - 1 мл; для концентрированного материала - 80 мкл; для очищенного образца или образца на заключительном этапе выделения - 80 мкл. Разведения готовили в трех повторностях в 96-луночных планшетах с низким связыванием белка, 30 мкл каждого разведения переносили в планшеты Optilux с черным/прозрачным дном (BD BioSciences).

Для получения стандартной кривой в растворе для разведения ферментов готовили разведения известной растворимой гHuPH20 с концентрацией 2,5 ед/мл, которые добавляли в планшет Optilux в трех повторностях. Использовали разведения 0 ед/мл, 0,25 ед/мл, 0,5 ед/мл, 1,0 ед/мл, 1,5 ед/мл, 2,0 ед/мл, и 2,5 ед/мл. В качестве отрицательного контроля в планшете предусмотрели лунки без реагента, которые содержали только 60 мкл раствора для разведения ферментов. Затем планшет

закрывали и нагревали в течение 5 минут при 37°C. Крышку снимали и содержимое планшета перемешивали на шейкере в течение 10 секунд. После перемешивания планшет снова нагревали и в жидкостный манипулятор MULTIDROP 384 Liquid Handling Device вносили теплый 0,25 мг/мл раствор гиалуроната натрия (готовят растворением 100 мг гиалуроната натрия (LifeCore Biomedical) в 20,0 мл SWFI. Раствор перемешивали, осторожно вращая и/или покачивая емкость при температуре 2-8°C в течение 2-4 часов или до полного растворения). Реакционный планшет переносили в устройство MULTIDROP 384 и реакцию начинали, нажимая клавишу "Старт", что приводило к добавлению 30 мкл раствора гиалуроната натрия в каждую лунку. Планшет вынимали из MULTIDROP 384 и встряхивали в течение 10 секунд, а затем нагревали с закрытой крышкой. Планшет инкубировали при 37°C в течение 10 минут

Реакцию останавливали с помощью MULTIDROP 384, в который загружали сывороточный рабочий раствор при увеличении вносимого объема до 240 мкл. (25 мл исходного сывороточного раствора [1 объем лошадиной сыворотки (Sigma) разбавляли 9 объемами 500 мМ ацетатного буферного раствора и pH доводили до 3,1 соляной кислотой] добавляли к 75 мл 500 мМ ацетатного буферного раствора). Планшет вынимали из нагревающего блока и помещали в MULTIDROP 384, который добавлял по 240 мкл сывороточного рабочего раствора в лунку. Планшет вынимали и встряхивали в течение 10 секунд. Через 15 минут мутность образцов измеряли при 640 нм, гиалуронидазную активность (в ед/мл) каждого образца определяли сравнением со стандартной кривой.

Удельную активность (единиц/мг) рассчитывали делением гиалуронидазной активности (ед/мл) на концентрацию белка (мг/мл).

### **ПРИМЕР 13**

#### **Получение и очистка человеческой sPH20 Gen1**

##### **А. Получение в биореакторе объемом 5 л**

Колбу с 3D35M размораживали и клетки растили в перемешиваемых на шейкере колбах, затем в 1 л вращающихся колбах в CD-CHO среде (Invitrogen, Carlsbad, Калифорния) с добавлением 100 нМ метотрексата и GlutaМАКС™-1 (Invitrogen). Клетки переносили из вращающихся колб в 5 л биореактор (Braun) при плотности инокуляции  $4 \times 10^5$  жизнеспособных клеток/мл. Температура была установлена на 37°C, pH 7,2 (начальная установка), количество растворенного кислорода составляло 25%, подача воздуха составляла 0-100 см<sup>3</sup>/мин. На 168 часу



добавили 250 мл питательной среды # 1 (CD CHO с 50 г/л глюкозы). На 216 часу добавили 250 мл питательной среды # 2 (CD CHO с 50 г/л глюкозы и 10 mM бутирата натрия), на 264 часу вновь добавили 250 мл питательной среды # 2. Окончательная продуктивность составила 1600 единиц на мл с максимальной плотностью клеток  $6 \times 10^6$  клеток/мл. Добавление бутирата натрия резко повысило продукцию растворимой rHuPH20 на завершающей стадии получения.

Кондиционированную среду от клона 3D35M очищали глубинной фильтрацией и тангенциальной проточной диафильтрацией в 10 HEPES mM pH 7,0. Растворимую rHuPH20 затем последовательно очищали с помощью хроматографии на ионообменной Q-сефарозе (Pharmacia), гидрофобной хроматографии на фенилсефарозе (Pharmacia), на фенилборонате (Prometics) и хроматографии на гидроксиапатите (Biorad, Richmond, Калифорния).

Растворимую rHuPH20, связавшуюся с Q-сефарозой, элюировали 400 mM NaCl в том же буфере. Элюат разбавляли 2M раствором сульфата аммония до конечной концентрации 500 mM сульфата аммония и пропускали через колонку с фенилсефарозой (низкозамещенную) с последующим связыванием в тех же условиях на фенилборонатной смоле. Растворимую rHuPH20 элюировали с фенилсефарозной смолы HEPES с pH 6,9 после отмывания 50 mM бицином при pH 9,0 без сульфата аммония. Элюат загружали на керамический гидроксиапатитный носитель при pH 6,9 в 5 mM фосфате калия и 1 mM  $\text{CaCl}_2$  и элюировали 80 mM фосфатом калия, pH 7,4 с 0,1 mM  $\text{CaCl}_2$ .

Полученная очищенная растворимая rHuPH20 обладала удельной активностью более 65000 USP единиц/мг белка по данным анализа микромутности (ПРИМЕР 3) с использованием стандарта сравнения USP. Очищенную sPH20 элюировали с колонки со стирол-дивинилбензольным носителем Pharmacia 5RPC в виде одного пика градиентом от 0,1% TFA/ $\text{H}_2\text{O}$  до 0,1% TFA/90% ацетонитрил/10%  $\text{H}_2\text{O}$  с 24 по 26 минуту, при анализе методом SDS-электрофореза белок давал одну широкую полосу, соответствующую 61 кДа, после обработки ПНГазой-F белок давал узкую полосу, соответствующую 51 кДа. N-концевое секвенирование показало, что лидерный пептид эффективно удалялся.

## **В. Нарращивание культуры клеток в 100 л биореакторе для культивирования клеток**

Для отдельной очистки растворимой rHuPH20 из четырех различных колб с клетками 3D35M и получения 4 отдельных партий sHuPH20 HUA0406C, HUA0410C, HUA0415C и HUA0420C использовали масштабирование процесса получения.

Клетки из каждой колбы отдельно наращивали и культивировали в 125 л биореакторе, затем белок очищали с использованием колоночной хроматографии. Для оценки таких параметров как выход фермента на протяжении всего процесса отбирали пробы. В приведенном ниже описании процесса указаны примеры условий для таких процессов и параметров, как запуск биореактора и объем питательной среды, плотность клеток при переносе и объемы отмывания и элюции. Точные численные значения незначительно отличались для каждой партии, они подробно описаны в Таблицах 24 - 30.

Четыре колбы с клетками 3D35M размораживали на водяной бане при 37°C, затем к клеткам добавляли CD-СНО среду, содержащую 100 нМ метотрексата и 40 мл/л GlutaMAX, и клетки центрифугировали. Клетки ресуспендировали в 125 мл встряхиваемой колбе в 20 мл свежей среды, после чего колбу помещали в инкубатор с 7% CO<sub>2</sub> при 37°C. Клетки растили в объеме 40 мл в 125 мл колбе при перемешивании на шейкере. Когда плотность клеток достигла  $1,5-2,5 \times 10^6$  клеток/мл, культуру растили в 125 мл вращающейся колбе в объеме 100 мл. Колбу инкубировали при 37°C и 7% CO<sub>2</sub>. Когда плотность клеток достигла  $1,5-2,5 \times 10^6$  клеток/мл, культуру растили в 250 мл вращающейся колбе в объеме 200 мл, колбы инкубировали при 37°C и 7% CO<sub>2</sub>. Когда плотность клеток достигла  $1,5-2,5 \times 10^6$  клеток/мл, культуру растили в 1 л вращающейся колбе в объеме 800 мл, колбу инкубировали при 37°C и 7% CO<sub>2</sub>. Когда плотность клеток достигла  $1,5-2,5 \times 10^6$  клеток/мл, культуру растили в 6 л вращающейся колбе в объеме 5 л, колбу инкубировали при 37°C и 7% CO<sub>2</sub>. Когда плотность клеток достигла  $1,5-2,5 \times 10^6$  клеток/мл, культуру растили в 36 л вращающейся колбе в объеме 20 л, колбы инкубировали при 37°C и 7% CO<sub>2</sub>.

125 л реактор стерилизовали паром при 121°C и 20 PSI (фунт на квадратный дюйм), после чего добавляли 65 л CD-СНО. Перед использованием реактора его проверили на загрязнение. Когда плотность клеток в 36 л вращающейся колбе достигла  $1,8-2,5 \times 10^6$  клеток/мл, 20 л культуры клеток перенесли из 36 л вращающейся колбы в 125 л биореактор (Braun), в результате чего окончательный объем составил 85 л, а плотность посева составила около  $4 \times 10^5$  клеток/мл. Температуру установили на 37°C, pH 7,2; уровень растворенного кислорода составлял  $25\% \pm 10\%$ ; скорость вращения крыльчатки 50 об/мин; давление в емкости 3 фунта на квадратный дюйм; количество барботируемого воздуха 1 л/мин; подача воздуха 1 л/мин. Каждый день содержимое реактора исследовали на количество клеток, pH, проводили анализ среды, анализ продукции и устойчивости белка. Во

время культивирования добавляли питательные вещества. На 6 день добавили 3,4 л питательной среды # 1 (CD CHO + 50 г/л глюкозы + 40 мл/л GlutaMAX™-1) и температуру культивирования изменили на 36,5°C. На 9 день добавили 3,5 л питательной среды # 2 (CD CHO + 40 г/л глюкозы + 50 мл/л GlutaMAX™-1 + 1,1 г/л бутирата натрия) и температуру культивирования изменили на 36°C. На 11 день добавили 3,7 л питательной среды # 3 (CD CHO + 50 г/л глюкозы + 40 мл/л GlutaMAX™-1 + 1,1 г/л бутирата натрия) и температуру культивирования изменили на 35,5°C. Клетки из реактора собирали на 14 день, или когда жизнеспособность клеток падала ниже 50%. Процесс приводил к получению растворимой rHuPH20 с ферментативной активностью 1600 ед/мл при максимальной плотности клеток 8 млн. клеток/мл. При сборе клеток культуру исследовали на микоплазму, биологическое загрязнение, эндотоксин и вирусы *in vitro* и *in vivo*, вирусные частицы обнаруживали просвечивающим электронным микроскопом (ПЭМ), а также исследовали ферментативную активность.

Сто литров собранной из биореактора клеточной культуры фильтровали через серию одноразовых фильтров с полиэфирсульфонным фильтрующим материалом (Sartorius): сначала фильтровали через картридж с порами 8,0 мкм, затем 0,65 мкм, 0,22 мкм, и, наконец, через 0,22 мкм фильтр Sartopore площадью 2000 см<sup>2</sup> в 100 л стерильный баллон для хранения. Культуру сконцентрировали в 10 раз с использованием двух TFF (тангенциальный проточный фильтр) со спиральными полиэфирсульфонными фильтрами с MWCO 30 кДа (Millipore), затем провели 6 × замену буфера на 10 мМ HEPES с 25 мМ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 7,0 с помощью последнего 0,22 мкм фильтра, и среду переносили в 20 л стерильный баллон для хранения. В Таблице 19 приведены данные, относящиеся к культивированию клеток, их сбору, стадиям концентрирования и замены буфера.

**Таблица 19.** Данные по культивированию клеток, их сбору, стадиям концентрирования и замены буфера

| Параметр                                                       | HUA0406C | HUA04010C | HUA0415C | HUA0420C |
|----------------------------------------------------------------|----------|-----------|----------|----------|
| Время от размораживания до внесения в 100 л биореактор (дней)  | 21       | 19        | 17       | 18       |
| Плотность инокуляции в 100 л (× 10 <sup>6</sup> клеток/мл)     | 0,45     | 0,33      | 0,44     | 0,46     |
| Время удвоения количества клеток при логарифмическом росте (ч) | 29,8     | 27,3      | 29,2     | 23,5     |
| Макс. плотность клеток (× 10 <sup>6</sup> клеток/мл)           | 5,65     | 8,70      | 6,07     | 9,70     |
| Жизнеспособность собранных клеток (%)                          | 41       | 48        | 41       | 41       |

|                                                                                      |       |       |       |       |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Титр собранной среды (ед/мл)                                                         | 1964  | 1670  | 991   | 1319  |
| Время культивирования в 100 л биореакторе (дней)                                     | 13    | 13    | 12    | 13    |
| Объем очищенной среды (мл)                                                           | 81800 | 93300 | 91800 | 89100 |
| Активность собранного отфильтрованного фермента (ед/мл)                              | 2385  | 1768  | 1039  | 1425  |
| Активность сконцентрированного фермента (ед/мл)                                      | 22954 | 17091 | 8561  | 17785 |
| Активность сконцентрированного фермента после замены буфера (ед/мл)                  | 15829 | 11649 | 9915  | 8679  |
| Активность сконцентрированного отфильтрованного фермента после замены буфера (ед/мл) | 21550 | 10882 | 9471  | 8527  |
| Объем после концентрирования и замены буфера (мл)                                    | 10699 | 13578 | 12727 | 20500 |
| Отношение количества единиц фермента/собранный фермент                               | 0,87  | 0,96  | 1,32  | 1,4   |

Готовили ионообменную колонку с Q сефарозой (Pharmacia) (3 л смолы, высота 20 см, диаметр 14 см). Для определения pH, проводимости и анализа на эндотоксин были взяты образцы после промывания колонки. Колонку уравнивали 5 объемами 10 мМ Трис, 20 мМ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 7,5. На Q колонку при скорости 100 см/час наносили сконцентрированную диафильтрованную среду. Колонку промывали 5 объемами 10 мМ Трис, 20 мМ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 7,5 и 10 мМ HEPES, 50 мМ NaCl, pH 7,0. Белок элюировали 10 мМ HEPES, 400 мМ NaCl, pH 7,0 и фильтровали через 0,22 мкм фильтр в стерильную емкость.

Затем проводили гидрофобную хроматографию на фенилсефарозе (Pharmacia). Готовили колонку с фенилсефарозой (PS) (9,1 л смолы, высота 29 см, диаметр 20 см). Колонку уравнивали 5 объемами 5 мМ фосфата калия с 0,5 М сульфатом аммония, 0,1 мМ CaCl<sub>2</sub>, pH 7,0. К элюированному, как описано выше, белку добавляли 2М раствор сульфата аммония, 1 М фосфат калия и 1 М CaCl<sub>2</sub> до конечных концентраций 5 мМ, 0,5 М и 0,1 мМ, соответственно. Белок загружали на PS колонку при скорости 100 см/час. При скорости 100 см/час через колонку пропускали 5 мМ фосфат калия, 0,5 М сульфат аммония и 0,1 мМ CaCl<sub>2</sub>, pH 7,0. Прошедший через колонку раствор пропускали через 0,22 мкм фильтр и собирали в стерильную емкость.

Затем очищенный на PS белок загружали на аминофенилборонатную колонку (ProMedics) (6,3 л смолы, высота 20 см, диаметр 20 см), которую предварительно уравнивали 5 объемами 5 мМ фосфата калия с 0,5 М сульфатом аммония. Белок

пропускали через колонку со скоростью 100 см/ч и колонку промывали 5 мМ фосфатом калия с 0,5 М сульфатом аммония, pH 7,0. Затем колонку промывали 20 мМ бисинном с 100 мМ NaCl, pH 9,0, белок элюировали 50 мМ HEPES, 100 мМ NaCl pH 6,9 и собирали через стерильный фильтр в 20 л стерильную емкость. Элюат исследовали на наличие биологического загрязнения, определяли концентрацию белка и активность фермента.

Колонку с гидроксиапатитом (BioRad) (1,6 л смолы, высота 10 см, диаметр 14 см) уравнивали 5 мМ фосфатом калия с 100 мМ NaCl, 0,1 мМ CaCl<sub>2</sub> pH 7,0. Для определения pH, проводимости и анализа на эндотоксин были взяты образцы после промывания колонки. К очищенному на аминифенилборонатной смоле белку добавляли фосфат калия и CaCl<sub>2</sub> до конечной концентрации 5 мМ фосфата калия и 0,1 мМ CaCl<sub>2</sub>, раствор наносили на колонку с гидроксиапатитом при скорости 100 см/час. Колонку промывали 5 мМ фосфатом калия, pH 7,0 с 100 мМ NaCl, 0,1 мМ CaCl<sub>2</sub>, затем 10 мМ фосфатом калия, pH 7,0 с 100 мМ NaCl, 0,1 мМ CaCl<sub>2</sub>. Белок элюировали 70 мМ фосфатом калия с pH 7,0, элюат фильтровали через 0,22 мкм фильтр в 5 л стерильную емкость для хранения. Элюат исследовали на наличие биологического загрязнения, определяли концентрацию белка и активность фермента.

Очищенный на колонке с гидроксиапатитом белок затем пропускали через 20 нМ фильтр для удаления вирусов с помощью резервуара для нагнетания давления. Белок вносили в резервуар DV20 для нагнетания давления и фильтровали (Pall Corporation) через Ultipor DV20 фильтр с 20 нм порами (Pall Corporation) в стерильную 20 л емкость для хранения. Фильтрат исследовали на концентрацию белка, ферментативную активность, содержание олигосахаридов, проводили характеризацию моносахаридов и сialовых кислот и связанных с процессом выделения и очистки примесей. Белок в фильтрате затем концентрировали до 1 мг/мл, используя систему тангенциальной проточной фильтрации (TFF) Sartocore Slice (Sartorius) с пределом исключения 10 кД по молекулярной массе (MWCO). Фильтр подготавливали, промывая HEPES/солевым раствором (10 мМ HEPES, 130 мМ NaCl, pH 7,0), и пермеат исследовали на pH и проводимость. После концентрирования раствор белка тестировали на концентрацию белка и ферментативную активность. Затем концентрированный белок перевели в 10 мМ HEPES буфер с 130 мМ NaCl, pH 7,0. Концентрированный белок пропускали через 0,22 мкм фильтр в 20 л стерильную емкость для хранения. Раствор белка исследовали на концентрацию белка, ферментативную активность, количество

свободных сульфгидрильных групп, проводили характеризацию олигосахаридов и определяли осмолярность.

В Таблицах с 20 по 26 приведены данные, относящиеся к каждой из описанных выше стадий очистки, проводимых для каждой партии клеток 3D35M.

Таблица 20. Данные по очистке белка на Q-сефарозе

| Параметр                               | HUA0406C | HUA0410C | HUA0415C | HUA0420C |
|----------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Нанесенный объем (мл)                  | 10647    | 13524    | 12852    | 20418    |
| Отношение нанесенный объем/объем смолы | 3,1      | 4,9      | 4,5      | 7,3      |
| Объем колонки (мл)                     | 2770     | 3840     | 2850     | 2880     |
| Объем элюата (мл)                      | 6108     | 5923     | 5759     | 6284     |
| Конц. белка в элюате (мг/мл)           | 2,8      | 3,05     | 2,80     | 2,86     |
| Анализ активности в элюате (ед/мл)     | 24493    | 26683    | 18321    | 21052    |
| Выход фермента (%)                     | 65       | 107      | 87       | 76       |

Таблица 21. Данные по очистке белка на колонке с фенилсефарозой

| Параметр                                    | HUA0406C | HUA0410C | HUA0415C | HUA0420C |
|---------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Объем до добавления исходного раствора (мл) | 5670     | 5015     | 5694     | 6251     |
| Нанесенный объем (мл)                       | 7599     | 6693     | 7631     | 8360     |
| Объем колонки (мл)                          | 9106     | 9420     | 9340     | 9420     |
| Отношение нанесенный объем/объем смолы      | 0,8      | 0,71     | 0,82     | 0,89     |
| Объем элюата (мл)                           | 16144    | 18010    | 16960    | 17328    |
| Конц. белка в элюате (мг/мл)                | 0,4      | 0,33     | 0,33     | 0,38     |
| Анализ активности в элюате (ед/мл)          | 8806     | 6585     | 4472     | 7509     |
| Выход белка (%)                             | 41       | 40       | 36       | 37       |
| Выход фермента (%)                          | 102      | 88       | 82       | 96       |

Таблица 22. Данные по очистке белка на аминофенилборонатной колонке

| Параметр                                   | HUA0406C      | HUA0410C | HUA0415C | HUA0420C |
|--------------------------------------------|---------------|----------|----------|----------|
| Нанесенный объем (мл)                      | 16136         | 17958    | 16931    | 17884    |
| Отношение нанесенный объем/объем смолы     | 2,99          | 3,15     | 3,08     | 2,98     |
| Объем колонки (мл)                         | 5400          | 5700     | 5500     | 5300     |
| Объем элюата (мл)                          | 17595         | 22084    | 20686    | 19145    |
| Конц. белка в элюате (мг/мл)               | 0,0           | 0,03     | 0,03     | 0,04     |
| Конц. белка в фильтрованном элюате (мг/мл) | не определяли | 0,03     | 0,00     | 0,04     |
| Анализ активности в элюате (ед/мл)         | 4050          | 2410     | 1523     | 4721     |
| Выход белка (%)                            | 0             | 11       | 11       | 12       |
| Выход фермента (%)                         | не определяли | 41       | 40       | 69       |

Таблица 23. Данные по очистке белка на гидроксапатитной колонке

| Параметр                                    | HUA0406C      | HUA0410C      | HUA0415C | HUA0420C      |
|---------------------------------------------|---------------|---------------|----------|---------------|
| Объем до добавления исходного раствора (мл) | 16345         | 20799         | 20640    | 19103         |
| Отношение нанесенный объем/объем смолы      | 10,95         | 13,58         | 14,19    | 12,81         |
| Объем колонки (мл)                          | 1500          | 1540          | 1462     | 1500          |
| Нанесенный объем (мл)                       | 16429         | 20917         | 20746    | 19213         |
| Объем элюата (мл)                           | 4100          | 2415          | 1936     | 2419          |
| Конц. белка в элюате (мг/мл)                | не определяли | 0,24          | 0,17     | 0,23          |
| Конц. белка в фильтрованном элюате (мг/мл)  | не определяли | не определяли | 0,17     | не определяли |
| Анализ активности в элюате (ед/мл)          | 14051         | 29089         | 20424    | 29826         |
| Выход белка (%)                             | не определяли | 93            | 53       | 73            |
| Выход фермента (%)                          | 87            | 118           | 140      | 104           |

Таблица 24. Данные по фильтрации на DV20

| Параметр                                   | HUA0406C      | HUA0410C      | HUA0415C | HUA0420C      |
|--------------------------------------------|---------------|---------------|----------|---------------|
| Начальный объем (мл)                       | 4077          | 2233          | 1917     | 2419          |
| Объем фильтрата (мл)                       | 4602          | 3334          | 2963     | 3504          |
| Конц. белка в фильтрате (мг/мл)            | 0,1           | не определяли | 0,09     | не определяли |
| Конц. белка в фильтрованном элюате (мг/мл) | не определяли | 0,15          | 0,09     | 0,16          |
| Выход белка (%)                            | не определяли | 93            | 82       | 101           |

Таблица 25. Окончательные данные по концентрации

| Параметр                          | HUA0406C | HUA0410C | HUA0415C | HUA0420C |
|-----------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Начальный объем (мл)              | 4575     | 3298     | 2963     | 3492     |
| Объем концентрата (мл)            | 562      | 407      | 237      | 316      |
| Конц. белка в концентрате (мг/мл) | 0,9      | 1,24     | 1,16     | 1,73     |
| Выход белка (%)                   | 111      | 102      | 103      | 98       |

Таблица 26. Данные по замене буфера в окончательном препарате

| Параметр                                            | HUA0406C | HUA0410C | HUA0415C | HUA0420C |
|-----------------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| Начальный объем (мл)                                | 562      | 407      | 237      | 316      |
| Конечный объем концентрата после замены буфера (мл) | 594      | 516      | 310      | 554      |
| Конц. белка в концентрате (мг/мл)                   | 1,00     | 0,97     | 0,98     | 1,00     |
| Конц. белка в фильтрованном концентрате (мг/мл)     | 0,95     | 0,92     | 0,95     | 1,02     |
| Выход белка (%)                                     | 118      | 99       | 110      | 101      |

Очищенную и сконцентрированную растворимую rHuPH20 асептически перенесли в стерильные колбы на 5 мл и 1 мл. Раствор белка пропускали через 0,22 мкм фильтр к контролируемому оператором насосу, который использовали для заполнения колб, которое контролировали гравиметрически. Колбы были закрыты пробками и дополнительно завинчивающимися крышками. Закрытые колбы визуально проверяли на наличие посторонних частиц, а затем подписывали. Затем колбы мгновенно замораживали погружением в жидкий азот не более чем на 1 минуту и хранили при  $\leq -15^{\circ}\text{C}$  ( $-20 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ).

#### ПРИМЕР 14

##### **Получение клеток Gen2, продуцирующих растворимую человеческую PH20 (rHuPH20)**

Клетки линии Gen1 3D35M, описанные в Примере 2, адаптировали к более высоким уровням метотрексата и получали 2 поколение клонов (Gen 2). Клетки 3D35M из стабильных содержащих метотрексат культур высевали в CD CHO среду, содержащую 4мМ GlutaMAX-1™ и 1,0 мкМ метотрексата. Клетки адаптировали к повышенному уровню метотрексата и пассировали их 9 раз в течение 46 дней при 37°C и 7% CO<sub>2</sub> в увлажненном инкубаторе. Выросшую популяцию клеток клонировали методом предельных разведений в 96-луночных культуральных планшетах, содержащих среду с 2,0 мкМ метотрексата. Примерно через 4 недели клоны идентифицировали, и клон 3E10B был выбран для культивирования. 3E10B клетки выращивали в среде CD CHO, содержащей 4 мМ GlutaMAX-1™ и 2,0 мкМ метотрексата в течение 20 пассажей. Из клеточной линии 3E10B получили банк клеток, клетки заморозили и использовали для последующих исследований.

Культивирование клеточной линии продолжали, выращивая 3E10B клетки в среде CD CHO, содержащей 4 мМ GlutaMAX-1™ и 4,0 мкМ метотрексата. После 12 пассажа клетки заморозили во флаконах, получив банк клеток для исследования (RCB). Один флакон из RCB разморозили и культивировали в среде, содержащей 8,0 мкМ метотрексата. Через 5 дней концентрацию метотрексата в среде увеличили до 16,0 мкМ, затем через 18 дней концентрацию увеличили до 20,0 мкМ. Клетки после 8 пассажа в среде, содержащей 20,0 мкМ метотрексата, клонировали методом предельных разведений в 96-луночных планшетах для культивирования, содержащих среду CD CHO с 4 мМ GlutaMAX-1™ и 20,0 мкМ метотрексата. Клоны идентифицировали через 5-6 недель, клон 2B2 был выбран для культивирования в



среде, содержащей 20,0 мкМ метотрексата. После 11 пассажа клетки 2B2 заморозили во флаконах в виде банка клеток для исследования (RCB).

Полученные 2B2 клетки являются дефектными по дигидрофолатредуктазе (DHFR-) клетками CHO DG44, экспрессирующими растворимую рекомбинантную человеческую PH20 (гHuPH20). Растворимая PH20 присутствует в 2B2 клетках при количестве копий приблизительно 206 копий/клетку. Саузерн-блоттинг анализ расщепленной SpeI, XbaI и BamHI/Hind III геномной ДНК клеток 2B2 с использованием специфичного к гHuPH20 зонда показал следующий профиль расщепления рестриктазами: при расщеплении ДНК SpeI была выявлена одна крупная полоса гибридизации ~ 7,7 Кб и четыре минорных полосы гибридизации (~ 13,9, ~ 6,6, ~ 5,7 и ~ 4,6 Кб); при расщеплении ДНК XbaI была выявлена одна крупная полоса гибридизации ~ 5,0 Кб и две минорных полосы гибридизации (~ 13,9 и ~ 6,5 Кб), при расщеплении ДНК BamHI/Hind III выявили одну крупную полосу гибридизации ~ 1,4 Кб. Анализ последовательности мРНК транскрипта показал, что полученная кДНК (SEQ ID NO: 56) идентична исходной последовательности (SEQ ID NO: 49) за исключением одной пары оснований в положении 1131, в котором наблюдался тимидин (Т) вместо ожидаемого цитозина (С). Это молчащая мутация, не влияющая на аминокислотную последовательность.

### ПРИМЕР 15

#### **А. Получение растворимой гHuPH20 Gen2 в 300 л биореакторе для культивирования клеток**

Колбу с HZ24-2B2 клетками разморозили и клетки растили в перемешиваемых на шейкере колбах, затем в 36 л вращающихся колбах в CD-CHO среде (Invitrogen, Carlsbad, Калифорния) с добавлением 20 мкМ метотрексата и GlutaMAX™-1 (Invitrogen). Колбу с клетками разморозили при 37°C на водяной бане, к содержимому добавили среду и клетки центрифугировали. Клетки ресуспендировали в 125 мл колбе в 20 мл свежей среды при перемешивании, колбу помещали в инкубатор при 37°C и 7% CO<sub>2</sub>. Клетки растили в объеме 40 мл в 125 мл встряхиваемой колбе. Когда плотность клеток превысила 1,5×10<sup>6</sup> клеток/ мл, культуру растили в 125 мл вращающейся колбе в объеме 100 мл. Колбу инкубировали при 37°C и 7% CO<sub>2</sub>. Когда плотность клеток превысила 1,5×10<sup>6</sup> клеток/ мл, культуру растили в 250 мл вращающейся колбе в объеме 200 мл, колбу инкубировали при 37°C и 7% CO<sub>2</sub>. Когда плотность клеток превысила 1,5×10<sup>6</sup> клеток/ мл, культуру растили в 1 л вращающейся колбе в объеме 800 мл при 37°C и

7% CO<sub>2</sub>. Когда плотность клеток превысила  $1,5 \times 10^6$  клеток/мл, культуру растили в 6 л вращающейся колбе в объеме 5000 мл при 37°C и 7% CO<sub>2</sub>. Когда плотность клеток превысила  $1,5 \times 10^6$  клеток/мл, культуру растили в 36 л вращающейся колбе в объеме 32 л при 37°C и 7% CO<sub>2</sub>.

Реактор объемом 400 л стерилизовали и в него добавляли 230 мл CD-CHO среды. Перед использованием реактор был проверен на загрязнение. Приблизительно 30 л клеток перенесли из 36 л вращающейся колбы в 400 л биореактор (Braun) при плотности посева  $4,0 \times 10^5$  жизнеспособных клеток/мл и общем объеме 260 л. Температуру установили на 37°C, pH 7,2; скорость вращения крыльчатки 40-55 об/мин; давление в емкости 3 фунта на квадратный дюйм; количество барботируемого воздуха 0,5-1,5 л/мин; подача воздуха 3 л/мин. Каждый день содержимое реактора исследовали на количество клеток, pH, проводили анализ среды, анализ продукции и устойчивости белка. В ходе культивирования также добавляли питательные вещества. Через 120 часов (день 5) добавили 10,4 л питательной среды # 1 ( $4 \times$  CD-CHO + 33 г/л глюкозы + 160 мл/л GlutaMAX-1™ + 83 мл/л дрожжевого экстракта Yeastolate + 33 мг/л рекомбинантного человеческого инсулина). Через 168 часов (день 7) добавили 10,8 л питательной среды # 2 ( $2 \times$  CD-CHO + 33 г/л глюкозы + 80 мл/л GlutaMAX-1™ + 167 мл/л дрожжевого экстракта Yeastolate + 0,92 г/л бутирата натрия), температуру культивирования понизили до 36,5°C. Через 216 часов (день 9) добавили 10,8 л питательной среды # 3 ( $1 \times$  CD-CHO + 50 г/л глюкозы + 50 мл/л GlutaMAX-1™ + 250 мл/л дрожжевого экстракта Yeastolate + 1,80 г/л бутирата натрия), температуру культивирования понизили до 36°C. Через 264 часов (день 11) добавили 10,8 л питательной среды # 4 ( $1 \times$  CD-CHO + 33 г/л глюкозы + 33 мл/л GlutaMAX-1™ + 250 мл/л дрожжевого экстракта Yeastolate + 0,92 г/л бутират натрия), температуру культивирования понизили до 35,5°C. Добавление питательной среды резко повысило продукцию растворимой gHuPH20 на завершающей стадии получения. Клетки из реактора собирали на 14 день или 15 день, или когда жизнеспособность клеток падала ниже 40%. Процесс приводил к получению растворимой gHuPH20 с ферментативной активностью 17000 ед/мл при максимальной плотности клеток 12 млн. клеток/мл. При сборе клеток культуру исследовали на микоплазму, биологическое загрязнение, эндотоксин и вирусы *in vitro* и *in vivo*, вирусные частицы обнаруживали просвечивающим электронным микроскопом (ПЭМ), а также исследовали ферментативную активность.

Культуру прокачивали перистальтическим насосом через четыре параллельно соединенных модуля системы фильтрации Millistak (Millipore), каждый из которых содержал слой диатомовой земли размером 4-8 мкм и слой диатомовой земли размером 1,4-1,1 мкм, а затем целлюлозную мембрану, после чего жидкость проходила через вторую систему фильтрации Millistak (Millipore), содержащую слой диатомовой земли размером 0,4-0,11 мкм и слой диатомовой земли размером <0,1 мкм, а затем целлюлозную мембрану, затем жидкость проходила через последний 0,22 мкм фильтр и ее собирали в стерильную одноразовую гибкую емкость вместимостью 350 л. К собранной культуральной жидкости добавляли ЭДТА до 10 мМ и 10 мМ Трис до pH 7,5.

В сконцентрированной диафильтрованной собранной жидкости инактивировали вирусы. До инаktivации вирусов готовили 10% раствор Тритона X-100 с 3% три(н-бутил)фосфатом (TNBP). Сконцентрированную диафильтрованную собранную жидкость обрабатывали 1% Тритоном X-100 с 0,3% TNBP в течение 1 часа в 36 л стеклянном реакционном сосуде непосредственно перед очисткой на Q колонке.

### **В. Очистка растворимой rHuPH20 из Gen2**

Была подготовлена колонка с ионообменным носителем Q сефарозой (Pharmacia) (9 л смолы, высота 29 см, диаметр 20 см). Для определения pH, проводимости и анализа на эндотоксин были взяты образцы после промывания колонки. Колонку уравнивали 5 объемами 10 мМ Трис, 20 мМ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 7,5. На Q колонку при скорости 100 см<sup>3</sup>/час наносили сконцентрированную диафильтрованную среду после инаktivации вирусов. Колонку промывали 5 объемами 10 мМ трис, 20 мМ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 7,5 и 10 мМ HEPES, 50 мМ NaCl, pH 7,0. Белок элюировали 10 мМ HEPES, 400 мМ NaCl, pH 7,0 и фильтровали через 0,22 мкм фильтр в стерильную емкость. Элюат исследовали на наличие микрофлоры, определяли концентрацию белка и гиалуронидазную активность. В начале и в конце процесса измеряли поглощение A<sub>280</sub>.

Затем проводили гидрофобную хроматографию на фенил-сефарозе (Pharmacia). Готовили колонку с фенилсефарозой (PS) (19 - 21 л смолы, высота 29 см, диаметр 30 см). Для определения pH, проводимости и анализа на эндотоксин были взяты образцы после промывания колонки. Колонку уравнивали 5 объемами 5 мМ фосфата калия с 0,5 М сульфатом аммония, 0,1 мМ CaCl<sub>2</sub>, pH 7,0. К элюированному с Q сефарозы белку добавляли 2М раствор сульфата аммония, 1 М фосфат калия и 1 М CaCl<sub>2</sub> до конечных концентраций 5 мМ, 0,5 М и 0,1 мМ,

соответственно. Белок загружали на PS колонку при скорости 100 см<sup>3</sup>/час и прошедший через колонку раствор собирали. Колонку промывали при скорости 100 см<sup>3</sup>/час 5 мМ фосфатом калия с 0,5 М сульфатом аммония и 0,1 мМ CaCl<sub>2</sub>, pH 7,0, прошедший через колонку раствор собирали. Объединенный прошедший через колонку раствор пропускали через 0,22 мкм фильтр и собирали в стерильную емкость. Собранный раствор исследовали на наличие микрофлоры, определяли концентрацию белка и ферментатическую активность.

Готовили колонку с аминофенилборонатной смолой (Prometics). Для определения pH, проводимости и анализа на эндотоксин были взяты образцы после промывания колонки. Колонку уравнивали 5 объемами 5 мМ фосфата калия с 0,5 М сульфатом аммония. Затем прошедшую через PS жидкость, содержащую очищенный белок, загружали на аминофенилборонатную колонку со скоростью 100 см/час. Колонку промывали 5 мМ фосфатом калия с 0,5 М сульфатом аммония, pH 7,0. Колонку промывали 20 мМ бисинном с 0,5 М сульфатом аммония, pH 9,0. Колонку промывали 20 мМ бисинном с 100 мМ хлоридом натрия, pH 9,0. Белок элюировали 50 мМ HEPES с 100 мМ NaCl, pH 6,9, элюат пропускали через стерильный фильтр в стерильную емкость. Элюат исследовали на наличие микрофлоры, определяли концентрацию белка и ферментатическую активность.

Готовили колонку с гидроксиапатитом (Biorad). Для определения pH, проводимости и анализа на эндотоксин были взяты образцы после промывания колонки. Колонку уравнивали 5 мМ фосфатом калия с 100 мМ NaCl, 0,1 мМ CaCl<sub>2</sub>, pH 7,0. К очищенному на аминофенилборонатной смоле раствору белка добавляли фосфат калия до конечной концентрации 5 мМ и CaCl<sub>2</sub> до конечной концентрации 0,1 мМ, раствор наносили на колонку при скорости 100 см<sup>3</sup>/час. Колонку промывали 5 мМ фосфатом калия, pH 7 с 100 мМ NaCl, 0,1 мМ CaCl<sub>2</sub>. Затем колонку промывали 10 мМ фосфатом калия, pH 7 с 100 мМ NaCl, 0,1 мМ CaCl<sub>2</sub>. Белок элюировали 70 мМ фосфатом калия, pH 7,0, элюат пропускали через 0,22 мкм стерильный фильтр в стерильную емкость. Элюат исследовали на наличие микрофлоры, определяли концентрацию белка и ферментатическую активность.

Очищенный на колонке с гидроксиапатитом белок затем пропускали через фильтр для удаления вирусов. Сначала проводили подготовку стерильного фильтра Virosart (Sartorius), промывая его 2 л 70 мМ фосфата калия, pH 7,0. Перед использованием профильтрованный буфер исследовали на pH и электропроводность. Очищенный на колонке с гидроксиапатитом раствор белка затем прокачивали с помощью перистальтического насоса через 20 нМ фильтр для удаления вирусов.

Профильтрованный раствор белка в 70 мМ фосфате калия, pH 7,0, пропускали через 0,22 мкм фильтр в стерильную емкость. Фильтрат исследовали на концентрацию белка, ферментативную активность, содержание олигосахаридов, проводили характеризацию моносахаридов и сиаловых кислот. Образец также тестировали на связанные с процессом выделения и очистки примеси.

Белок в фильтрате затем концентрировали до 10 мг/мл, используя систему тангенциальной проточной фильтрации (TFF) Sartocore Slice (Sartorius) с пределом исключения 10 кД по молекулярной массе (MWCO). Фильтр подготавливали, промывая его 10 мМ гистидином с 130 мМ NaCl, pH 6,0, пермеат исследовали на pH и проводимость. После концентрирования раствор белка тестировали на концентрацию белка и ферментативную активность. Затем концентрированный белок перевели 6 × в 10 мМ гистидиновый буфер с 130 мМ NaCl, pH 6,0. Концентрированный белок пропускали через 0,22 мкм фильтр в 20 л стерильную емкость для хранения. Раствор белка исследовали на концентрацию белка, ферментативную активность, количество свободных сульфгидрильных групп, проводили характеризацию олигосахаридов и определяли осмолярность.

Стерильной профильтрованный раствор белка асептически переносили порциями по 20 мл в 30 мл стерильные тefлоновые колбы (Nalgene). Затем колбы мгновенно замораживали и хранили при  $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ .

### **С. Сравнение данных о продукции и очистке растворимой rHuPH20 из Gen1 и растворимой rHuPH20 из Gen2**

Производство и очистка растворимой rHuPH20 из Gen2 в 300 л биореакторе для культивирования клеток характеризуется некоторыми изменениями в технологии по сравнению с производством и очисткой растворимой rHuPH20 из Gen1 в 100 л биореакторе для культивирования клеток (как описано в Примере 13В). В Таблице 27 приведены примеры различий в технологии (в дополнение к обычному изменению масштаба).

Таблица 27

| Различия процесса                                  | Растворимая rHuPH20 Gen1                   | Растворимая rHuPH20 Gen2             |
|----------------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------|
| Линия клеток                                       | 3D35M                                      | 2B2                                  |
| Используемая для наращивания клеток среда          | Содержит 0,10 мкМ метотрексат (0,045 мг/л) | Содержит 20 мкМ метотрексат (9 мг/л) |
| Среда для дальнейшего культивирования в объеме 6 л | Содержит 0,10 мкМ метотрексат              | Не содержит метотрексат              |

|                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 36 л вращающаяся колба               | Без дополнительных приспособлений                                                                                                                                                                                                                                               | Оснащена устройствами для определения и контроля pH, уровня растворенного кислорода, барботирования и скорости подачи воздуха.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|                                      | Рабочий объем 20 л.                                                                                                                                                                                                                                                             | Рабочий объем 32 л                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Конечный рабочий объем в биореакторе | Приблизительно 100 л в 125 л биореакторе (начальный объем культуры + 65 л)                                                                                                                                                                                                      | Приблизительно 300 л в 400 л биореакторе (начальный объем культуры + 260 л)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Культуральная среда в биореакторе    | без рекомбинантного человеческого инсулина                                                                                                                                                                                                                                      | 5,0 мг/л рекомбинантного человеческого инсулина                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Объем питательной среды              | Составляла 4% от объема клеточной культуры в биореакторе, т.е. 3,4, 3,5 и 3,7 л, что приводило к желаемому объему в биореакторе ~92 л.                                                                                                                                          | Составляла 4% от объема клеточной культуры в биореакторе, т.е. 10,4, 10,8, 11,2 и 11,7 л, что приводило к желаемому объему в биореакторе ~303 л.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Питательная среда                    | <p>Питательная среда #1:<br/>CD CHO + 50 г/л глюкозы + 8 мМ GlutaMAX™-1</p> <p>Питательная среда #2<br/>(CD CHO + 50 г/л глюкозы + 8 мМ GlutaMAX + 1,1 г/л бутират натрия</p> <p>Питательная среда #3:<br/>CD CHO + 50 г/л глюкозы + 8 мМ GlutaMAX + 1,1 г/л бутират натрия</p> | <p>Питательная среда #1:<br/>4× CD CHO + 33 г/л глюкозы + 32 мМ Glutamax + 16,6 г/л Yeastolate + 33 мг/л рекомбинантного человеческого инсулина</p> <p>Питательная среда #2:<br/>2× CD CHO + 33 г/л глюкозы + 16 мМ Glutamax + 33,4 г/л Yeastolate + 0,92 г/л бутират натрия</p> <p>Питательная среда #3:<br/>1× CD CHO + 50 г/л глюкозы + 10 мМ Glutamax + 50 г/л Yeastolate + 1,80 г/л бутирата натрия</p> <p>Питательная среда #4:<br/>1× CD CHO + 33 г/л глюкозы + 6.6 мМ Glutamax + 50 г/л Yeastolate + 0,92 г/л бутирата натрия</p> |

|                                                      |                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Фильтрация клеточной культуры из биореактора         | <p>Четыре полиэфирсульфонных фильтра (8,0 мкМ, 0,65 мкМ, 0,22 мкМ и 0,22 мкМ) последовательно</p> <p>100 л емкость для зранения</p>                                                                                                        | <p>1 стадия – четыре модуля параллельно, каждый со слоем диатомовой земли размером 4-8 мкМ, слоем диатомовой земли размером 1,4-1,1 мкМ, затем с целлюлозной мембраной.</p> <p>2 стадия – один модуль со слоем диатомовой земли размером 0,4-0,11 мкм и со слоем диатомовой земли размером &lt;0,1 мкм, затем с целлюлозной мембраной.</p> <p>3 стадия – 0,22 мкМ полиэфирсульфонный фильтр</p> <p>300 л емкость для зранения</p> <p>К собранной клеточной культуре добавляли ЭДТА до 10 мМ, 10 мМ Трис до pH 7,5.</p> |
| Концентрирование и замена буфера до хроматографии    | <p>Концентрировали с использованием 2 TFF со спиральными полиэфирсульфонными фильтрами Millipore с MWCO 30 кДа</p> <p>Замена буфера для 6× концентрата на 10 мМ HEPES с 25 мМ NaCl, pH 7,0</p> <p>20 л стерильная емкость для хранения</p> | <p>Концентрировали с использованием фильтра Sartorius Sartoslice TFF MWCO 30 кДа</p> <p>Замена буфера для 10× концентрата на 10 мМ Трис с 20 мМ Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pH 7,5</p> <p>50 л стерильная емкость для хранения</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Инактивация вирусов до хроматографии                 | Не проводили                                                                                                                                                                                                                               | Инактивацию вирусов проводили добавлением 1% Тритона X-100 с 0,3% трибутилфосфата, pH 7,5,                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 1 стадия очистки (Q сефароза)                        | Не измеряли поглощение                                                                                                                                                                                                                     | Поглощение A <sub>280</sub> измеряли в начале и в конце процесса                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Фильтрация от вирусов после хроматографии            | Фильтр Pall DV-20 (20 нм)                                                                                                                                                                                                                  | Фильтр Sartorius Virosart (20 нм)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Концентрирование и замена буфера после хроматографии | <p>Буфер HEPES/солевой раствор pH 7,0</p> <p>Белок концентрировали до 1 мг/мл</p>                                                                                                                                                          | <p>гистидин/солевой раствор, pH 6,0</p> <p>Белок концентрировали до 10 мг/мл</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

## ПРИМЕР 16

### Определение содержания сиаловых кислот и моносахаридов

Содержание сиаловых кислот и моносахаридов в растворимой rHuPH20 можно определить с помощью обратнофазной жидкостной хроматографии (RPLC) после гидролиза трифторуксусной кислотой. В одном примере определяли содержание сиаловых кислот и моносахаридов в партии очищенной гиалуронидазы # HUB0701E (1,2 мг/мл; получена и очищена, как описано в Примере 15). 100 мкг образца гидролизовали 40% (по объему) трифторуксусной кислоты при 100°C в течение 4 часов в двух повторностях. После гидролиза образцы высушивали и суспендировали в 300 мкл воды. Аликвоту 45 мкл каждого ресуспендированного образца переносили в новую пробирку и высушивали, затем к содержимому пробирки добавляли 10 мкл 10 мг/мл раствора ацетата натрия. Выделенные моносахариды флуоресцентно метили добавлением 50 мкл раствора, содержащего 30 мг/мл 2-аминобензойной кислоты, 20 мг/мл цианоборгидрида натрия, около 40 мг/мл ацетата натрия и 20 мг/мл борной кислоты в метаноле. Смесь инкубировали в течение 30 минут при 80°C в темноте. Реакцию получения меченых производных останавливали добавлением 440 мкл раствора А (0,2% (объем/объем) н-бутиламина, 0,5% (объем/объем) фосфорной кислоты, 1% (объем/объем) тетрагидрофурана). Аликвоту воды также подвергали процессу гидролиза и флуоресцентного мечения, как описано для образца гиалуронидазы, в качестве отрицательного контроля. Выделенные моносахариды разделяли методом RPLC с использованием октадецильной (C<sub>18</sub>) обратнофазной колонки (4,6 x 250 мм, размер частиц 5 мкм; JT Baker), детекцию осуществляли с помощью флуоресценции (возбуждение 360 нм, излучение 425 нм). Количественное определение содержания моносахаридов проводили сравнением хроматограмм образца гиалуронидазы с хроматограммой стандартов моносахаридов, включающих N-D-глюкозамин (GlcN), N-D-галактозамин (GalN), галактозу, фукозу и маннозу. В Таблице 28 представлены молярные отношения каждого моносахарида к молекуле гиалуронидазы.

Таблица 28. Содержание моносахаридов в растворимой rHuPH20

| партия   | повторность | GlcN  | GalN  | галактоза | манноза | фукоза |
|----------|-------------|-------|-------|-----------|---------|--------|
| HUB0701E | 1           | 14,28 | 0,07* | 6,19      | 25,28   | 2,69   |
|          | 2           | 13,66 | 0,08* | 6,00      | 24,34   | 2,61   |
|          | среднее     | 13,97 | 0,08* | 6,10      | 24,81   | 2,65   |



**ПРИМЕР 17****С-концевая гетерогенность растворимой gHuPH20 из клеток 3D35M и 2B2**

Для sHuPH20 из партии, полученной и очищенной из клеток 3D35M в 100 л биореакторе (партия HUA0505MA), и партии, полученной из 2B2 клеток в 300 л биореакторе (партия HUB0701EB), провели определение С-концевой последовательности. Белки из каждой партии отдельно расщепляли эндопротеиназой Asp-N, которая специфически расщепляет пептидные связи с N-конца от аспарагиновой кислоты и цистеиновой кислоты. Расщепление привело к высвобождению С-концевой части растворимой gHuPH20, начиная с аспарагиновой кислоты в положении 431 из SEQ ID NO: 4. С-концевой фрагмент отделяли и характеризовали для определения последовательности и относительного содержания в партии HUA0505MA и партии HUB0701EB.

Было отмечено, что препараты растворимой gHuPH20 из клеток 3D35M и клеток 2B2 демонстрировали гетерогенность, то есть содержали полипептиды, которые отличались друг от друга по С-концевой последовательности (см. Таблицы 30 и 31). Такая гетерогенность, скорее всего, объясняется расщеплением экспрессируемого 447 аминокислотного полипептида (SEQ ID NO: 4) с С-конца пептидазами, присутствующими в культуральной среде или других растворах, применяемых в ходе получения и очистки белка. Полученные из препаратов растворимой gHuPH20 полипептиды имели аминокислотные последовательности, соответствующие аминокислотам 1-447, 1-446, 1-445, 1-444 и 1-443 последовательности растворимой gHuPH20, приведенной в SEQ ID NO: 122. Полные аминокислотные последовательности каждого из этих полипептидов приведены в SEQ ID NO: 122 - 126, соответственно. Как отмечено в Таблицах 29 и 30, содержание каждого полипептида в препаратах растворимой gHuPH20 из клеток 3D35M и 2B2 клеток отличается.

**Таблица 29. Анализ С-концевых фрагментов из партии HUA0505MA**

| Фрагмент | А.-к. позиция (по SEQ ID NO: 4) | Последовательность                   | Теор. масса | Эксп. масса | Ошибка     | Время элюции | Содержание |
|----------|---------------------------------|--------------------------------------|-------------|-------------|------------|--------------|------------|
| D28a     | 431-447                         | DAFKLPPMETEEPQIFY<br>(SEQ ID NO:191) | 2053,97     | 2054,42     | 0,45       | 99,87        | 0,2%       |
| D28b     | 431-446                         | DAFKLPPMETEEPQIF<br>(SEQ ID NO:192)  | 1890,91     | 1891,28     | 0,37       | 97,02        | 18,4%      |
| D28c     | 431-445                         | DAFKLPPMETEEPQI<br>(SEQ ID NO:193)   | 1743,84     | 1744,17     | 0,33       | 86,4         | 11,8%      |
| D28d     | 431-444                         | DAFKLPPMETEEPQ<br>(SEQ ID NO:194)    | 1630,70     | 1631,07     | 0,32       | 74,15        | 56,1%      |
| D28e     | 431-443                         | DAFKLPPMETEEP<br>(SEQ ID NO:195)     | 1502,70     | 1502,98     | 0,28       | 77,36        | 13,6%      |
| D28f     | 431-442                         | DAFKLPPMETEE<br>(SEQ ID NO:196)      | 1405,64     | Нет данных  | Нет данных | Нет данных   | 0,0%       |

Таблица 30. Анализ С-концевых фрагментов из партии HUB0701EB

| Фрагмент | А.-к. позиция (по SEQ ID NO: 4) | Последовательность                   | Теор. масса | Эксп. масса | Ошибка     | Время элюции | Содержани |
|----------|---------------------------------|--------------------------------------|-------------|-------------|------------|--------------|-----------|
| D28a     | 431-447                         | DAFKLPPMETEERQIFY<br>(SEQ ID NO:191) | 2053,97     | 2054,42     | 0,45       | 99,89        | 1,9%      |
| D28b     | 431-446                         | DAFKLPPMETEERQIF<br>(SEQ ID NO:192)  | 1890,91     | 1891,36     | 0,45       | 96,92        | 46,7%     |
| D28c     | 431-445                         | DAFKLPPMETEERQI<br>(SEQ ID NO:193)   | 1743,84     | 1744,24     | 0,40       | 85,98        | 16,7%     |
| D28d     | 431-444                         | DAFKLPPMETEERQ<br>(SEQ ID NO:194)    | 1630,70     | 1631,14     | 0,39       | 73,9         | 27,8%     |
| D28e     | 431-443                         | DAFKLPPMETEER<br>(SEQ ID NO:195)     | 1502,70     | 1503,03     | 0,33       | 77,02        | 6,9%      |
| D28f     | 431-442                         | DAFKLPPMETEE<br>(SEQ ID NO:196)      | 1405,64     | Нет данных  | Нет данных | Нет данных   | 0,0%      |

Все изменения изобретения должны быть очевидны специалистам в данной области, но предполагается, что изобретение ограничено Формулой изобретения.

В настоящем документе также предусмотрены все очевидные специалистам в данной области изменения изобретения, но предполагается, что изобретение ограничено Формулой изобретения.

# ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

- <110> Галозим, Инк  
ВЕИ, Ги  
ПАННИИРСЕЛВАМ, Кришнасами  
БУКБИНДЕР, Луис  
ФРОСТ, Грегори Ай.
- <120> ДЛИННЫЕ РАСТВОРИМЫЕ ПОЛИПЕПТИДЫ РН20 И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
- <130> 3800020.00246/3074РС
- <140> Еще не установлено  
<141> Посредством этого
- <150> US 61/201,384  
<151> 2008-12-09
- <150> US 61/281,240  
<151> 2009-11-13
- <160> 215
- <170> FastSEQ для Windows версии 4.0
- <210> 1  
<211> 1530  
<212> ДНК  
<213> Homo sapiens
- <220>  
<223> Человеческая РН20 кДНК, кодирующая аминокислоты 1-509
- <400> 1  
atgggagtgс тааааттсаа гсacatcttt ttcagaagct ttgttaaатс aagtggagta 60  
tcccagatag ttttcacctt ccttctgatt ccatgttgct tgactctgaa tttcagagca 120  
cctcctgtta ttccaaatgt gcctttcctc tgggcctgga atgccccaaг tgaattttgt 180  
cttgгaaаat ttgatgagcc actagatatg agcctcttct ctttcatagg aagcccccgа 240  
ataaacгcca ccgggcaagg tgttacaata ttttatgttg atagacttgг ctactatcct 300  
tacatagatt caatcacagg agtaactgtg aatggaggaa tccccagaa gatttcctta 360  
caagaccatc tggacaaagc таагааагac attacatттt atatgccagt agacaatttg 420  
ggaatggctg ttattgactg ggaagaatgg agaccactt gggcaagaaa ctgгaaacct 480  
aaagatgttt асаагааtag gtctattgaa ttggttcagc аасаааатgt асаacttagt 540  
ctcacagagg ccactgagaa agcaaaaaca gaatttgaaa aggcaggгaa ggatttcctg 600  
gtagagacta тааааттggg аааattactt cggccaaatc acttgtgggg ttattatcct 660  
tttccgгatt gttacaacca tcactataag aaacccggtt асаатggaaг ttgcttcaat 720  
gtagaaataa aaagaaatga tgatctcagc tggттtgгga atgaaagcac tgctctttac 780  
ccatccattt atttgaacac tcagcagtct cctgtagctg ctacactcta tgtgгcaat 840  
cgagttcgгg aagccatcag agtttccaaa atacctgatg caaaaagtcc acttccгgtt 900  
tttgcatata cccgcatagt ttttactgat caagттttga aattcctttc tcaagatgaa 960  
cttgtgtata catttgгcga aactgttgct ctgggtgctt ctggaattgt aatatggгga 1020  
accctcagta таатгcгaaг tatgaaatct tgcttgctcc tagacaatta catggagact 1080  
atactgaatc cttacataat caacgtcaca ctagcagcca aaatgtgtag ccaagtгctt 1140  
tgccaggagc aaggagtgtg tataaggaaa aactggaatt caagtgacta tcttcacctc 1200  
aaccagata attttgctat tcaacttgag aaaggtгga агttcacagt acgtggaaaa 1260  
ccgacacttg aagacctgga gcaattttct gaaaaatttt attgcagctg ttatagcacc 1320  
ttgagттgta aggagaaagc tgatgтаaaa gacactgatg ctgттgatgt gtgtattgct 1380  
gatgгtgct gtatagatgc ttttctaaaa cctcccatgg agacagaaga acctcaaatt 1440  
ttctacaatg cttcacctc cacactatct gccacaatgt tcattgttag tattttgttt 1500  
cttatcattt cttctgtagc gagттgтаа 1530

<210> 2  
 <211> 1506  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Кодон-оптимизированная РН20 с сайтами рестрикции

<400> 2  
 gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctggttggggc ttcttctgct ttgggtccct 60  
 ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120  
 gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180  
 ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240  
 tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300  
 ggaggcattc ctcaaaaa atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360  
 acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420  
 cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480  
 gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540  
 ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600  
 cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660  
 cccggctaca acgatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttg 720  
 ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780  
 gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840  
 cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900  
 gtgttgaaatg tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960  
 ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020  
 ctgctgtttg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080  
 gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140  
 tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200  
 ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagag atctcgaaca gtttagtgaa 1260  
 aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320  
 actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380  
 ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440  
 accatgttca tcgtatctat acttttctctg attatatcaa gcgtggcaag cctctgataa 1500  
 ggatcc 1506

<210> 3  
 <211> 507  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> Предшественник HuPH20 (1-507)

<400> 3  
 Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
 20 25 30  
 Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro  
 35 40 45  
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 55 60  
 Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg  
 65 70 75 80  
 Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 85 90 95  
 Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 100 105 110

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |  |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |  |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |  |  |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |  |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |  |  |
|     | 145 |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |  |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |  |  |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |  |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |  |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |  |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |  |  |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |  |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |  |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |  |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |  |  |
|     | 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |  |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |  |  |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |     |  |  |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |  |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     |     | 270 |     |  |  |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |  |  |
|     | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |  |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |  |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |  |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |  |  |
|     | 305 |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |  |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |  |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     | 335 |     |  |  |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |  |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |  |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |  |  |
|     | 355 |     |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |  |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |  |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |  |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |  |  |
|     | 385 |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |  |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |  |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |  |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |  |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     |     | 430 |     |  |  |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |  |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |  |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |  |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |  |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |  |  |
|     | 465 |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |  |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val |  |  |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |  |  |
| Ser | Ile | Leu | Phe | Leu | Ile | Ile | Ser | Ser | Val | Ala |     |     |     |     |     |  |  |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     |     |     |     |  |  |

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 505

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-505

&lt;400&gt; 4

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Ser | Ile | Leu | Phe | Leu | Ile | Ile | Ser | Ser |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 503

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-503

&lt;400&gt; 5

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     |     | 365 |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
| 370 |     |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Ser | Ile | Leu | Phe | Leu | Ile | Ile |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 501

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-501

&lt;400&gt; 6

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



```

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
      260      265      270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
      275      280      285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
      290      295      300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305      310      315      320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
      325      330      335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
      340      345      350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
      355      360      365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
      370      375      380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385      390      395      400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
      405      410      415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
      420      425      430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
      435      440      445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
      450      455      460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465      470      475      480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
      485      490      495
Ser Ile Leu Phe Leu
      500

```

<210> 7

<211> 499

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-499

<400> 7

```

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

```

Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro  
 145 150 155 160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 165 170 175  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
 180 185 190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile  
 465 470 475 480  
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val  
 485 490 495  
 Ser Ile Leu

<210> 8

<211> 497

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-497

<400> 8

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
 20 25 30

Ser

<210> 9  
 <211> 495  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> HuPH20 предшественник 1-495

<400> 9

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys | 20  | 25  | 30  |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | 35  | 40  | 45  |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | 50  | 55  | 60  |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | 85  | 90  | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | 100 | 105 | 110 |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | 115 | 120 | 125 |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | 130 | 135 | 140 |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | 165 | 170 | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | 180 | 185 | 190 |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | 195 | 200 | 205 |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | 210 | 215 | 220 |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | 245 | 250 | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | 260 | 265 | 270 |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | 275 | 280 | 285 |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | 290 | 295 | 300 |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | 305 | 310 | 315 | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | 325 | 330 | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | 340 | 345 | 350 |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | 355 | 360 | 365 |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | 370 | 375 | 380 |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | 385 | 390 | 395 | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | 405 | 410 | 415 |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     | 475 |     |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile |     |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 493

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-493

&lt;400&gt; 10

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

```

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
                325                330                335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
                340                345                350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
                355                360                365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
                370                375                380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385                390                395                400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
                405                410                415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
                420                425                430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
                435                440                445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
                450                455                460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465                470                475                480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met
                485                490

```

<210> 11

<211> 491

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-491

<400> 11

```

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

```

```

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
225                230                235                240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
                245                250                255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
                260                265                270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
                275                280                285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
                290                295                300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305                310                315                320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
                325                330                335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
                340                345                350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
                355                360                365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370                375                380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385                390                395                400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
                405                410                415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
                420                425                430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
                435                440                445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450                455                460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465                470                475                480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala
                485                490

```

<210> 12

<211> 489

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-489

<400> 12

```

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

```

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140  
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro  
 145 150 155 160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 165 170 175  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
 180 185 190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile  
 465 470 475 480  
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu  
 485

<210> 13

<211> 490

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-490

<400> 13

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
 20 25 30



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 14  
 <211> 487  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> HuPH20 предшественник 1-487

<400> 14

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys | 20  | 25  | 30  |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | 35  | 40  | 45  |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | 50  | 55  | 60  |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | 85  | 90  | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | 100 | 105 | 110 |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | 115 | 120 | 125 |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | 130 | 135 | 140 |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | 165 | 170 | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | 180 | 185 | 190 |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | 195 | 200 | 205 |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | 210 | 215 | 220 |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | 245 | 250 | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | 260 | 265 | 270 |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | 275 | 280 | 285 |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | 290 | 295 | 300 |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | 305 | 310 | 315 | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | 325 | 330 | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | 340 | 345 | 350 |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | 355 | 360 | 365 |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | 370 | 375 | 380 |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | 385 | 390 | 395 | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | 405 | 410 | 415 |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 485

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-485

&lt;400&gt; 15

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

```

Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
                325                330                335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
                340                345                350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
                355                360                365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
                370                375                380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385                390                395                400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
                405                410                415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
                420                425                430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
                435                440                445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
                450                455                460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465                470                475                480
Phe Tyr Asn Ala Ser
                485

```

<210> 16

<211> 484

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-484

<400> 16

```

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

```

```

Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
225                230                235                240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
                245                250                255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
                260                265                270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
                275                280                285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
                290                295                300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305                310                315                320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
                325                330                335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
                340                345                350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
                355                360                365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370                375                380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385                390                395                400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
                405                410                415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
                420                425                430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
                435                440                445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450                455                460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465                470                475                480
Phe Tyr Asn Ala

```

<210> 17

<211> 483

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-483

<400> 17

```

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

```

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140  
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro  
 145 150 155 160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 165 170 175  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
 180 185 190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile  
 465 470 475 480  
 Phe Tyr Asn

<210> 18

<211> 482

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-482

<400> 18

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
 20 25 30

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

```
<210> 19
<211> 481
<212> Белок
<213> Homo sapiens
```

<220>  
<223> НuPH20 предшественник 1-481

<400> 19

|            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |           |           |            |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|------------|
| Met<br>1   | Gly        | Val        | Leu        | Lys<br>5   | Phe        | Lys        | His        | Ile        | Phe<br>10  | Phe        | Arg        | Ser        | Phe       | Val<br>15 | Lys        |
| Ser        | Ser        | Gly        | Val<br>20  | Ser        | Gln        | Ile        | Val        | Phe<br>25  | Thr        | Phe        | Leu        | Leu        | Ile<br>30 | Pro       | Cys        |
| Cys        | Leu        | Thr<br>35  | Leu        | Asn        | Phe        | Arg        | Ala<br>40  | Pro        | Pro        | Val        | Ile        | Pro<br>45  | Asn       | Val       | Pro        |
| Phe<br>50  | Leu        | Trp        | Ala        | Trp        | Asn        | Ala<br>55  | Pro        | Ser        | Glu        | Phe        | Cys<br>60  | Leu        | Gly       | Lys       | Phe        |
| Asp<br>65  | Glu        | Pro        | Leu        | Asp        | Met<br>70  | Ser        | Leu        | Phe        | Ser        | Phe<br>75  | Ile        | Gly        | Ser       | Pro       | Arg<br>80  |
| Ile        | Asn        | Ala        | Thr        | Gly<br>85  | Gln        | Gly        | Val        | Thr        | Ile<br>90  | Phe        | Tyr        | Val        | Asp<br>95 | Arg       | Leu        |
| Gly        | Tyr        | Tyr        | Pro<br>100 | Tyr        | Ile        | Asp        | Ser        | Ile<br>105 | Thr        | Gly        | Val        | Thr<br>110 | Val       | Asn       | Gly        |
| Gly        | Ile        | Pro<br>115 | Gln        | Lys        | Ile        | Ser        | Leu<br>120 | Gln        | Asp        | His        | Leu        | Asp<br>125 | Lys       | Ala       | Lys        |
| Lys        | Asp<br>130 | Ile        | Thr        | Phe        | Tyr        | Met<br>135 | Pro        | Val        | Asp        | Asn        | Leu<br>140 | Gly        | Met       | Ala       | Val        |
| Ile<br>145 | Asp        | Trp        | Glu        | Glu        | Trp<br>150 | Arg        | Pro        | Thr        | Trp        | Ala<br>155 | Arg        | Asn        | Trp       | Lys       | Pro<br>160 |
| Lys        | Asp        | Val        | Tyr        | Lys<br>165 | Asn        | Arg        | Ser        | Ile        | Glu<br>170 | Leu        | Val        | Gln        | Gln       | Gln       | Asn<br>175 |
| Val        | Gln        | Leu<br>180 | Ser        | Leu        | Thr        | Glu        | Ala<br>185 | Thr        | Glu        | Lys        | Ala        | Lys<br>190 | Gln       | Glu       | Phe        |
| Glu        | Lys        | Ala<br>195 | Gly        | Lys        | Asp        | Phe        | Leu<br>200 | Val        | Glu        | Thr        | Ile        | Lys<br>205 | Leu       | Gly       | Lys        |
| Leu        | Leu<br>210 | Arg        | Pro        | Asn        | His        | Leu<br>215 | Trp        | Gly        | Tyr        | Tyr        | Leu<br>220 | Phe        | Pro       | Asp       | Cys        |
| Tyr<br>225 | Asn        | His        | His        | Tyr        | Lys<br>230 | Lys        | Pro        | Gly        | Tyr        | Asn<br>235 | Gly        | Ser        | Cys       | Phe       | Asn<br>240 |
| Val        | Glu        | Ile        | Lys        | Arg<br>245 | Asn        | Asp        | Asp        | Leu        | Ser<br>250 | Trp        | Leu        | Trp        | Asn       | Glu       | Ser<br>255 |
| Thr        | Ala        | Leu<br>260 | Tyr        | Pro        | Ser        | Ile        | Tyr        | Leu<br>265 | Asn        | Thr        | Gln        | Gln<br>270 | Ser       | Pro       | Val        |
| Ala        | Ala<br>275 | Thr        | Leu        | Tyr        | Val        | Arg        | Asn<br>280 | Arg        | Val        | Arg        | Glu        | Ala<br>285 | Ile       | Arg       | Val        |
| Ser        | Lys<br>290 | Ile        | Pro        | Asp        | Ala        | Lys<br>295 | Ser        | Pro        | Leu        | Pro        | Val<br>300 | Phe        | Ala       | Tyr       | Thr        |
| Arg<br>305 | Ile        | Val        | Phe        | Thr        | Asp<br>310 | Gln        | Val        | Leu        | Lys        | Phe<br>315 | Leu        | Ser        | Gln       | Asp       | Glu<br>320 |
| Leu        | Val        | Tyr        | Thr        | Phe<br>325 | Gly        | Glu        | Thr        | Val        | Ala<br>330 | Leu        | Gly        | Ala        | Ser       | Gly       | Ile<br>335 |
| Val        | Ile        | Trp<br>340 | Gly        | Thr        | Leu        | Ser        | Ile        | Met<br>345 | Arg        | Ser        | Met        | Lys<br>350 | Ser       | Cys       | Leu        |
| Leu        | Leu<br>355 | Asp        | Asn        | Tyr        | Met        | Glu        | Thr<br>360 | Ile        | Leu        | Asn        | Pro        | Tyr<br>365 | Ile       | Ile       | Asn        |
| Val        | Thr<br>370 | Leu        | Ala        | Ala        | Lys        | Met<br>375 | Cys        | Ser        | Gln        | Val        | Leu<br>380 | Cys        | Gln       | Glu       | Gln        |
| Gly<br>385 | Val        | Cys        | Ile        | Arg        | Lys<br>390 | Asn        | Trp        | Asn        | Ser        | Ser<br>395 | Asp        | Tyr        | Leu       | His       | Leu<br>400 |
| Asn        | Pro        | Asp        | Asn        | Phe<br>405 | Ala        | Ile        | Gln        | Leu        | Glu<br>410 | Lys        | Gly        | Gly        | Lys       | Phe       | Thr<br>415 |



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 480

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-480

&lt;400&gt; 20

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     |     | 360 |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 479

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-479

&lt;400&gt; 21

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     | 435 |     |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln |     |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 478

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-478

&lt;400&gt; 22

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

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 165 170 175  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
 180 185 190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro  
 465 470 475

<210> 23

<211> 477

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-477

<400> 23

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

```

Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu
      85                      90                      95
Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly
      100                    105                    110
Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys
      115                    120                    125
Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val
      130                    135                    140
Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro
      145                    150                    155                    160
Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn
      165                    170                    175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe
      180                    185                    190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
      195                    200                    205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
      210                    215                    220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
      225                    230                    235                    240
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
      245                    250                    255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
      260                    265                    270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
      275                    280                    285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
      290                    295                    300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
      305                    310                    315                    320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
      325                    330                    335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
      340                    345                    350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
      355                    360                    365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
      370                    375                    380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
      385                    390                    395                    400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
      405                    410                    415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
      420                    425                    430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
      435                    440                    445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
      450                    455                    460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu
      465                    470                    475

```

<210> 24

<211> 476

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-476

&lt;400&gt; 24

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu |     |     |     |     |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     |

```
<210> 25
<211> 475
<212> Белок
<213> Homo sapiens
```

<220>  
<223> НuPH20 предшественник 1-475

|         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |
|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| <400>   | 25      |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |         |
| Met 1   | Gly     | Val     | Leu     | Lys 5   | Phe     | Lys     | His     | Ile     | Phe 10  | Phe     | Arg     | Ser     | Phe     | Val 15  | Lys     |
| Ser     | Ser     | Gly     | Val 20  | Ser     | Gln     | Ile     | Val     | Phe 25  | Thr     | Phe     | Leu     | Leu     | Ile 30  | Pro     | Cys     |
| Cys     | Leu     | Thr 35  | Leu     | Asn     | Phe     | Arg     | Ala 40  | Pro     | Pro     | Val     | Ile     | Pro 45  | Asn     | Val     | Pro     |
| Phe     | Leu 50  | Trp     | Ala     | Trp     | Asn 55  | Ala     | Pro     | Ser     | Glu     | Phe     | Cys 60  | Leu     | Gly     | Lys     | Phe     |
| Asp 65  | Glu     | Pro     | Leu     | Asp 70  | Met     | Ser     | Leu     | Phe     | Ser     | Phe 75  | Ile     | Gly     | Ser     | Pro     | Arg 80  |
| Ile     | Asn     | Ala     | Thr     | Gly 85  | Gln     | Gly     | Val     | Thr     | Ile 90  | Phe     | Tyr     | Val     | Asp     | Arg 95  | Leu     |
| Gly     | Tyr     | Tyr     | Pro 100 | Tyr     | Ile     | Asp     | Ser     | Ile 105 | Thr     | Gly     | Val     | Thr     | Val 110 | Asn     | Gly     |
| Gly     | Ile     | Pro 115 | Gln     | Lys     | Ile     | Ser     | Leu 120 | Gln     | Asp     | His     | Leu     | Asp 125 | Lys     | Ala     | Lys     |
| Lys     | Asp 130 | Ile     | Thr     | Phe     | Tyr     | Met 135 | Pro     | Val     | Asp     | Asn     | Leu 140 | Gly     | Met     | Ala     | Val     |
| Ile 145 | Asp     | Trp     | Glu     | Glu     | Trp 150 | Arg     | Pro     | Thr     | Trp     | Ala 155 | Arg     | Asn     | Trp     | Lys     | Pro 160 |
| Lys     | Asp     | Val     | Tyr     | Lys 165 | Asn     | Arg     | Ser     | Ile     | Glu 170 | Leu     | Val     | Gln     | Gln     | Gln 175 | Asn     |
| Val     | Gln     | Leu     | Ser 180 | Leu     | Thr     | Glu     | Ala 185 | Thr     | Glu     | Lys     | Ala     | Lys     | Gln 190 | Glu     | Phe     |
| Glu     | Lys     | Ala 195 | Gly     | Lys     | Asp     | Phe     | Leu 200 | Val     | Glu     | Thr     | Ile     | Lys 205 | Leu     | Gly     | Lys     |
| Leu     | Leu 210 | Arg     | Pro     | Asn     | His     | Leu 215 | Trp     | Gly     | Tyr     | Tyr     | Leu 220 | Phe     | Pro     | Asp     | Cys     |
| Tyr 225 | Asn     | His     | His     | Tyr 230 | Lys     | Lys     | Pro     | Gly     | Tyr     | Asn 235 | Gly     | Ser     | Cys     | Phe     | Asn 240 |
| Val     | Glu     | Ile     | Lys 245 | Arg     | Asn     | Asp     | Asp     | Leu     | Ser 250 | Trp     | Leu     | Trp     | Asn     | Glu 255 | Ser     |
| Thr     | Ala     | Leu     | Tyr 260 | Pro     | Ser     | Ile     | Tyr     | Leu 265 | Asn     | Thr     | Gln     | Gln     | Ser 270 | Pro     | Val     |
| Ala     | Ala     | Thr 275 | Leu     | Tyr     | Val     | Arg     | Asn 280 | Arg     | Val     | Arg     | Glu     | Ala 285 | Ile     | Arg     | Val     |
| Ser     | Lys 290 | Ile     | Pro     | Asp     | Ala     | Lys 295 | Ser     | Pro     | Leu     | Pro     | Val 300 | Phe     | Ala     | Tyr     | Thr     |
| Arg 305 | Ile     | Val     | Phe     | Thr 310 | Asp     | Gln     | Val     | Leu     | Lys     | Phe 315 | Leu     | Ser     | Gln     | Asp     | Glu 320 |
| Leu     | Val     | Tyr     | Thr 325 | Phe     | Gly     | Glu     | Thr     | Val     | Ala 330 | Leu     | Gly     | Ala     | Ser     | Gly 335 | Ile     |
| Val     | Ile     | Trp     | Gly 340 | Thr     | Leu     | Ser     | Ile     | Met 345 | Arg     | Ser     | Met     | Lys     | Ser 350 | Cys     | Leu     |
| Leu     | Leu     | Asp 355 | Asn     | Tyr     | Met     | Glu     | Thr 360 | Ile     | Leu     | Asn     | Pro     | Tyr 365 | Ile     | Ile     | Asn     |
| Val     | Thr 370 | Leu     | Ala     | Ala     | Lys     | Met 375 | Cys     | Ser     | Gln     | Val     | Leu 380 | Cys     | Gln     | Glu     | Gln     |
| Gly 385 | Val     | Cys     | Ile     | Arg 390 | Lys     | Asn     | Trp     | Asn     | Ser     | Ser 395 | Asp     | Tyr     | Leu     | His     | Leu 400 |
| Asn     | Pro     | Asp     | Asn     | Phe 405 | Ala     | Ile     | Gln     | Leu     | Glu     | Lys 410 | Gly     | Gly     | Lys     | Phe     | Thr     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr |     |     |     |     |     |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 474

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-474

&lt;400&gt; 26

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu |     |     |     |     |     |     |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 473

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-473

&lt;400&gt; 27

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

```

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
      260      265      270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
      275      280      285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
      290      295      300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305      310      315      320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
      325      330      335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
      340      345      350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
      355      360      365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
      370      375      380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385      390      395      400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
      405      410      415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
      420      425      430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
      435      440      445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
      450      455      460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met
465      470

```

<210> 28

<211> 472

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-472

<400> 28

```

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

```

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     |     | 210 |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 471

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-471

&lt;400&gt; 29

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

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 100 105 110  
 Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 120 125  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140  
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro  
 145 150 155 160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 165 170 175  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
 180 185 190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro  
 465 470

<210> 30

<211> 470

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-470

<400> 30

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 5 10 15

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     | 150 |     |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     | 310 |     |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

```
<210> 31
<211> 469
<212> Белок
<213> Homo sapiens
```

<220>  
<223> NuPH20 предшественник 1-469

<400> 31

|           |     |     |     |          |     |     |     |     |           |     |     |     |     |           |       |
|-----------|-----|-----|-----|----------|-----|-----|-----|-----|-----------|-----|-----|-----|-----|-----------|-------|
| Met<br>1  | Gly | Val | Leu | Lys<br>5 | Phe | Lys | His | Ile | Phe<br>10 | Phe | Arg | Ser | Phe | Val<br>15 | Lys   |
| Ser       | Ser | Gly | Val | Ser      | Gln | Ile | Val | Phe | Thr       | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro       | Cys   |
|           |     |     | 20  |          |     |     |     | 25  |           |     |     |     | 30  |           |       |
| Cys       | Leu | Thr | Leu | Asn      | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro       | Val | Ile | Pro | Asn | Val       | Pro   |
|           |     | 35  |     |          |     |     | 40  |     |           |     |     | 45  |     |           |       |
| Phe       | Leu | Trp | Ala | Trp      | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu       | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys       | Phe   |
|           | 50  |     |     |          |     | 55  |     |     |           |     | 60  |     |     |           |       |
| Asp<br>65 | Glu | Pro | Leu | Asp      | Met | Ser | Leu | Phe | Ser       | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro       | Arg   |
|           |     |     |     | 70       |     |     |     |     |           | 75  |     |     |     | 80        |       |
| Ile       | Asn | Ala | Thr | Gly      | Gln | Gly | Val | Thr | Ile       | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg       | Leu   |
|           |     |     | 85  |          |     |     |     |     | 90        |     |     |     | 95  |           |       |
| Gly       | Tyr | Tyr | Pro | Tyr      | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr       | Gly | Val | Thr | Val | Asn       | Gly   |
|           |     |     | 100 |          |     |     |     | 105 |           |     |     |     | 110 |           |       |
| Gly       | Ile | Pro | Gln | Lys      | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp       | His | Leu | Asp | Lys | Ala       | Lys   |
|           |     | 115 |     |          |     |     | 120 |     |           |     |     | 125 |     |           |       |
| Lys       | Asp | Ile | Thr | Phe      | Tyr | Met | Pro | Val | Asp       | Asn | Leu | Gly | Met | Ala       | Val   |
|           | 130 |     |     |          |     | 135 |     |     |           |     | 140 |     |     |           |       |
| Ile       | Asp | Trp | Glu | Glu      | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp       | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys       | Pro   |
| 145       |     |     |     | 150      |     |     |     |     |           | 155 |     |     |     | 160       |       |
| Lys       | Asp | Val | Tyr | Lys      | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu       | Leu | Val | Gln | Gln | Gln       | Asn   |
|           |     |     | 165 |          |     |     |     |     | 170       |     |     |     | 175 |           |       |
| Val       | Gln | Leu | Ser | Leu      | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu       | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu       | Phe   |
|           |     |     | 180 |          |     |     |     | 185 |           |     |     |     | 190 |           |       |
| Glu       | Lys | Ala | Gly | Lys      | Asp | Phe | Leu | Val | Glu       | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly       | Lys   |
|           |     | 195 |     |          |     |     | 200 |     |           |     |     | 205 |     |           |       |
| Leu       | Leu | Arg | Pro | Asn      | His | Leu | Trp | Gly | Tyr       | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp       | Cys   |
|           | 210 |     |     |          |     | 215 |     |     |           |     | 220 |     |     |           |       |
| Tyr       | Asn | His | His | Tyr      | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr       | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe       | Asn   |
| 225       |     |     |     | 230      |     |     |     |     |           | 235 |     |     |     | 240       |       |
| Val       | Glu | Ile | Lys | Arg      | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser       | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu       | Ser   |
|           |     |     | 245 |          |     |     |     | 250 |           |     |     |     | 255 |           |       |
| Thr       | Ala | Leu | Tyr | Pro      | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn       | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro       | Val   |
|           |     |     | 260 |          |     |     |     | 265 |           |     |     |     | 270 |           |       |
| Ala       | Ala | Thr | Leu | Tyr      | Val | Arg | Asn | Arg | Val       | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg       | Val   |
|           |     | 275 |     |          |     |     | 280 |     |           |     |     | 285 |     |           |       |
| Ser       | Lys | Ile | Pro | Asp      | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu       | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr       | Thr   |
|           | 290 |     |     |          |     | 295 |     |     |           |     | 300 |     |     |           |       |
| Arg       | Ile | Val | Phe | Thr      | Asp | Gln | Val | Leu | Lys       | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp       | Glu   |
| 305       |     |     |     | 310      |     |     |     |     |           | 315 |     |     |     | 320       |       |
| Leu       | Val | Tyr | Thr | Phe      | Gly | Glu | Thr | Val | Ala       | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly       | Ile   |
|           |     |     | 325 |          |     |     |     | 330 |           |     |     |     | 335 |           |       |
| Val       | Ile | Trp | Gly | Thr      | Leu | Ser | Ile | Met | Arg       | Ser | Met | Lys | Ser | Cys       | Leu   |
|           |     |     | 340 |          |     |     |     | 345 |           |     |     | 350 |     |           |       |
| Leu       | Leu | Asp | Asn | Tyr      | Met | Glu | Thr | Ile | Leu       | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile       | Asn</ |

Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala Phe Leu  
 465

<210> 32

<211> 468

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-468

<400> 32

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
 20 25 30  
 Cys Leu Thr Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro  
 35 40 45  
 Phe Leu Trp Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe  
 50 55 60  
 Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg  
 65 70 75 80  
 Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu  
 85 90 95  
 Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 100 105 110  
 Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 120 125  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140  
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro  
 145 150 155 160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 165 170 175  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
 180 185 190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     | 410 |     |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 465 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 33

&lt;211&gt; 467

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-467

&lt;400&gt; 33

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



Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala  
 465

<210> 34

<211> 466

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-466

<400> 34

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

Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
 180 185 190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp  
 465

<210> 35

<211> 465

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-465

<400> 35

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

Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly  
 100 105 110  
 Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
 115 120 125  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140  
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro  
 145 150 155 160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 165 170 175  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
 180 185 190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile  
 465

<210> 36

<211> 464

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-464

<400> 36

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 5 10 15

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 462

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-462

&lt;400&gt; 37

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys | 20  | 25  | 30  |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | 35  | 40  | 45  |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | 50  | 55  | 60  |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | 85  | 90  | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | 100 | 105 | 110 |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | 115 | 120 | 125 |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | 130 | 135 | 140 |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | 165 | 170 | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | 180 | 185 | 190 |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | 195 | 200 | 205 |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | 210 | 215 | 220 |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | 245 | 250 | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | 260 | 265 | 270 |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | 275 | 280 | 285 |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | 290 | 295 | 300 |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | 305 | 310 | 315 | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | 325 | 330 | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | 340 | 345 | 350 |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | 355 | 360 | 365 |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | 370 | 375 | 380 |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | 385 | 390 | 395 | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | 405 | 410 | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | 420 | 425 | 430 |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |     |     |     |     |

|     |                     |                         |         |  |     |
|-----|---------------------|-------------------------|---------|--|-----|
|     | 435                 |                         | 440     |  | 445 |
| Val | Lys Asp Thr Asp Ala | Val Asp Val Cys Ile Ala | Asp Gly |  |     |
|     | 450                 | 455                     | 460     |  |     |

<210> 38  
 <211> 460  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> HuPH20 предшественник 1-460

<400> 38

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |

|                                                                 |  |     |  |     |
|-----------------------------------------------------------------|--|-----|--|-----|
| 370                                                             |  | 375 |  | 380 |
| Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu |  |     |  |     |
| 385                                                             |  | 390 |  | 395 |
| Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr |  |     |  | 400 |
|                                                                 |  | 405 |  | 410 |
| Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys |  |     |  | 415 |
|                                                                 |  | 420 |  | 425 |
| Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp |  |     |  | 430 |
|                                                                 |  | 435 |  | 440 |
| Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala                 |  |     |  | 445 |
|                                                                 |  | 450 |  | 455 |
|                                                                 |  |     |  | 460 |

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 458

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-458

&lt;400&gt; 39

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |         |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------|
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     | 320     |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |         |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |         |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |         |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400     |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     | 410 |     |     |     |     |     | 415     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |         |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |         |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys |     |     |     |     |         |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     |     |     |     |         |

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 456

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-456

&lt;400&gt; 40

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



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |  |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |  |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 454

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-454

&lt;400&gt; 41

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |  |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |  |  |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |  |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |  |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |  |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |  |  |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |  |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |  |  |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |  |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |  |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |  |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |  |  |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |  |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |  |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |  |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |  |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |  |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |  |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |  |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |  |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |  |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |  |  |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |  |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |  |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |  |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |  |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |  |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |  |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |  |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |  |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |  |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |  |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |  |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|     | 450 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 452

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-452

&lt;400&gt; 42

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

[illegible]

<210> 43

<211> 450

<212> Белок

<213> Homo sapiens

 $\langle 220 \rangle$ 

<223> НuРН20 предшественник 1-450

<400> 43

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

|                                                                 |     |     |
|-----------------------------------------------------------------|-----|-----|
| 50                                                              | 55  | 60  |
| Asp Glu Pro Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg |     |     |
| 65                                                              | 70  | 75  |
| Ile Asn Ala Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu |     | 80  |
|                                                                 | 85  | 90  |
| Gly Tyr Tyr Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly |     | 95  |
|                                                                 | 100 | 105 |
| Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys |     | 110 |
|                                                                 | 115 | 120 |
| Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val |     | 125 |
|                                                                 | 130 | 135 |
| Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro |     | 140 |
|                                                                 | 145 | 150 |
| Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn |     | 155 |
|                                                                 | 165 | 170 |
| Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe |     | 175 |
|                                                                 | 180 | 185 |
| Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys |     | 190 |
|                                                                 | 195 | 200 |
| Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys |     | 205 |
|                                                                 | 210 | 215 |
| Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn |     | 220 |
|                                                                 | 225 | 230 |
| Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser |     | 235 |
|                                                                 | 245 | 250 |
| Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val |     | 255 |
|                                                                 | 260 | 265 |
| Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val |     | 270 |
|                                                                 | 275 | 280 |
| Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr |     | 285 |
|                                                                 | 290 | 295 |
| Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu |     | 300 |
|                                                                 | 310 | 315 |
| Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile |     | 320 |
|                                                                 | 325 | 330 |
| Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu |     | 335 |
|                                                                 | 340 | 345 |
| Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn |     | 350 |
|                                                                 | 355 | 360 |
| Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln |     | 365 |
|                                                                 | 370 | 375 |
| Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu |     | 380 |
|                                                                 | 385 | 390 |
| Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr |     | 395 |
|                                                                 | 405 | 410 |
| Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys |     | 415 |
|                                                                 | 420 | 425 |
| Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp |     | 430 |
|                                                                 | 435 | 440 |
| Val Lys                                                         |     | 445 |
| 450                                                             |     |     |

&lt;210&gt; 44

&lt;211&gt; 508

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-508

&lt;400&gt; 44

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Ser | Ile | Leu | Phe | Leu | Ile | Ile | Ser | Ser | Val | Ala | Ser |     |     |     |     |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 45

&lt;211&gt; 506

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-506

&lt;400&gt; 45

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     |     | 365 |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
| 370 |     |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     |     | 490 |     |     |     | 495 |     |
| Ser | Ile | Leu | Phe | Leu | Ile | Ile | Ser | Ser | Val |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 46

&lt;211&gt; 504

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-504

&lt;400&gt; 46

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

```

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
      260                      265                      270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
      275                      280                      285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
      290                      295                      300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305      310                      315                      320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
      325                      330                      335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
      340                      345                      350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
      355                      360                      365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
370      375                      380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385      390                      395                      400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
      405                      410                      415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
      420                      425                      430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
      435                      440                      445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
450      455                      460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465      470                      475                      480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val
      485                      490                      495
Ser Ile Leu Phe Leu Ile Ile Ser
      500

```

<210> 47

<211> 502

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-502

<400> 47

```

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

```



Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro  
 145 150 155 160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 165 170 175  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
 180 185 190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile  
 465 470 475 480  
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val  
 485 490 495  
 Ser Ile Leu Phe Leu Ile  
 500

<210> 48

<211> 500

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-500

<400> 48

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
 20 25 30

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     |     | 110 |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     | 150 |     |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     |     | 190 |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     |     | 270 |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     |     | 285 |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     | 310 |     |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     |     | 350 |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     |     | 380 |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

```
<210> 49
<211> 498
<212> Белок
<213> Homo sapiens
```

<220>  
<223> NuPH20 предшественник 1-498

<400> 49

|           |     |     |     |          |     |     |     |     |           |     |     |     |     |           |       |
|-----------|-----|-----|-----|----------|-----|-----|-----|-----|-----------|-----|-----|-----|-----|-----------|-------|
| Met<br>1  | Gly | Val | Leu | Lys<br>5 | Phe | Lys | His | Ile | Phe<br>10 | Phe | Arg | Ser | Phe | Val<br>15 | Lys   |
| Ser       | Ser | Gly | Val | Ser      | Gln | Ile | Val | Phe | Thr       | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro       | Cys   |
|           |     |     | 20  |          |     |     |     | 25  |           |     |     |     | 30  |           |       |
| Cys       | Leu | Thr | Leu | Asn      | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro       | Val | Ile | Pro | Asn | Val       | Pro   |
|           |     | 35  |     |          |     |     | 40  |     |           |     |     | 45  |     |           |       |
| Phe       | Leu | Trp | Ala | Trp      | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu       | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys       | Phe   |
|           | 50  |     |     |          |     | 55  |     |     |           |     | 60  |     |     |           |       |
| Asp<br>65 | Glu | Pro | Leu | Asp      | Met | Ser | Leu | Phe | Ser       | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro       | Arg   |
|           |     |     |     | 70       |     |     |     |     |           | 75  |     |     |     | 80        |       |
| Ile       | Asn | Ala | Thr | Gly      | Gln | Gly | Val | Thr | Ile       | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg       | Leu   |
|           |     |     |     | 85       |     |     |     |     | 90        |     |     |     |     | 95        |       |
| Gly       | Tyr | Tyr | Pro | Tyr      | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr       | Gly | Val | Thr | Val | Asn       | Gly   |
|           |     |     | 100 |          |     |     |     | 105 |           |     |     |     | 110 |           |       |
| Gly       | Ile | Pro | Gln | Lys      | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp       | His | Leu | Asp | Lys | Ala       | Lys   |
|           |     | 115 |     |          |     |     | 120 |     |           |     |     | 125 |     |           |       |
| Lys       | Asp | Ile | Thr | Phe      | Tyr | Met | Pro | Val | Asp       | Asn | Leu | Gly | Met | Ala       | Val   |
|           | 130 |     |     |          |     | 135 |     |     |           |     | 140 |     |     |           |       |
| Ile       | Asp | Trp | Glu | Glu      | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp       | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys       | Pro   |
| 145       |     |     |     | 150      |     |     |     |     |           | 155 |     |     |     | 160       |       |
| Lys       | Asp | Val | Tyr | Lys      | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu       | Leu | Val | Gln | Gln | Gln       | Asn   |
|           |     |     |     | 165      |     |     |     |     | 170       |     |     |     |     | 175       |       |
| Val       | Gln | Leu | Ser | Leu      | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu       | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu       | Phe   |
|           |     |     | 180 |          |     |     |     | 185 |           |     |     |     | 190 |           |       |
| Glu       | Lys | Ala | Gly | Lys      | Asp | Phe | Leu | Val | Glu       | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly       | Lys   |
|           |     | 195 |     |          |     |     | 200 |     |           |     |     | 205 |     |           |       |
| Leu       | Leu | Arg | Pro | Asn      | His | Leu | Trp | Gly | Tyr       | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp       | Cys   |
|           | 210 |     |     |          |     | 215 |     |     |           |     | 220 |     |     |           |       |
| Tyr       | Asn | His | His | Tyr      | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr       | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe       | Asn   |
| 225       |     |     |     | 230      |     |     |     |     |           | 235 |     |     |     | 240       |       |
| Val       | Glu | Ile | Lys | Arg      | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser       | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu       | Ser   |
|           |     |     |     | 245      |     |     |     |     | 250       |     |     |     |     | 255       |       |
| Thr       | Ala | Leu | Tyr | Pro      | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn       | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro       | Val   |
|           |     |     | 260 |          |     |     |     | 265 |           |     |     |     | 270 |           |       |
| Ala       | Ala | Thr | Leu | Tyr      | Val | Arg | Asn | Arg | Val       | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg       | Val   |
|           |     | 275 |     |          |     |     | 280 |     |           |     |     | 285 |     |           |       |
| Ser       | Lys | Ile | Pro | Asp      | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu       | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr       | Thr   |
|           | 290 |     |     |          |     | 295 |     |     |           |     | 300 |     |     |           |       |
| Arg       | Ile | Val | Phe | Thr      | Asp | Gln | Val | Leu | Lys       | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp       | Glu   |
| 305       |     |     |     | 310      |     |     |     |     |           | 315 |     |     |     | 320       |       |
| Leu       | Val | Tyr | Thr | Phe      | Gly | Glu | Thr | Val | Ala       | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly       | Ile   |
|           |     |     |     | 325      |     |     |     |     | 330       |     |     |     |     | 335       |       |
| Val       | Ile | Trp | Gly | Thr      | Leu | Ser | Ile | Met | Arg       | Ser | Met | Lys | Ser | Cys       | Leu   |
|           |     |     | 340 |          |     |     |     | 345 |           |     |     |     | 350 |           |       |
| Leu       | Leu | Asp | Asn | Tyr      | Met | Glu | Thr | Ile | Leu       | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile       | Asn</ |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     | 475 |     |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Ser | Ile |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 496

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-496

&lt;400&gt; 50

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

```

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

```

<210> 51

<211> 494

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> HuPH20 предшественник 1-494

<400> 51

```

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

```

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe |     |     |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 52

&lt;211&gt; 492

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-492

&lt;400&gt; 52

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |  |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |  |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |  |  |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |  |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |  |  |
|     | 145 |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |  |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |  |  |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |  |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |  |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |  |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |  |  |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |  |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |  |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |  |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |  |  |
|     | 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |  |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |  |  |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |     |  |  |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |  |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |  |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |  |  |
|     | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |  |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |  |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |  |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |  |  |
|     | 305 |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |  |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |  |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     | 335 |     |  |  |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |  |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     | 350 |     |     |     |  |  |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |  |  |
|     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |     |  |  |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |  |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |  |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |  |  |
|     | 385 |     |     |     | 390 |     |     |     | 395 |     |     |     |     |     | 400 |  |  |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |  |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |  |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |  |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |  |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |  |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |  |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |  |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |  |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |  |  |
|     | 465 |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |  |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr |     |     |     |     |  |  |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     |     |     |  |  |

&lt;210&gt; 53

&lt;211&gt; 488

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HuPH20 предшественник 1-488

&lt;400&gt; 53

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |  |  |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |  |  |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |



```
<210> 54
<211> 486
<212> Белок
<213> Homo sapiens
```

<220>  
<223> NuPH20 предшественник 1-486

<400> 54

|            |            |            |            |          |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Met<br>1   | Gly        | Val        | Leu        | Lys<br>5 | Phe        | Lys        | His        | Ile        | Phe<br>10  | Phe        | Arg        | Ser        | Phe        | Val<br>15  | Lys        |
| Ser        | Ser        | Gly        | Val<br>20  | Ser      | Gln        | Ile        | Val        | Phe<br>25  | Thr        | Phe        | Leu        | Leu        | Ile<br>30  | Pro        | Cys        |
| Cys        | Leu        | Thr<br>35  | Leu        | Asn      | Phe        | Arg        | Ala<br>40  | Pro        | Pro        | Val        | Ile        | Pro<br>45  | Asn        | Val        | Pro        |
| Phe<br>50  | Leu        | Trp        | Ala        | Trp      | Asn        | Ala<br>55  | Pro        | Ser        | Glu        | Phe        | Cys<br>60  | Leu        | Gly        | Lys        | Phe        |
| Asp<br>65  | Glu        | Pro        | Leu        | Asp      | Met<br>70  | Ser        | Leu        | Phe        | Ser        | Phe<br>75  | Ile        | Gly        | Ser        | Pro        | Arg<br>80  |
| Ile        | Asn        | Ala        | Thr<br>85  | Gly      | Gln        | Gly        | Val        | Thr        | Ile<br>90  | Phe        | Tyr        | Val        | Asp<br>95  | Arg        | Leu        |
| Gly        | Tyr        | Tyr        | Pro<br>100 | Tyr      | Ile        | Asp        | Ser        | Ile<br>105 | Thr        | Gly        | Val        | Thr        | Val<br>110 | Asn        | Gly        |
| Gly        | Ile        | Pro<br>115 | Gln        | Lys      | Ile        | Ser        | Leu<br>120 | Gln        | Asp        | His        | Leu        | Asp<br>125 | Lys        | Ala        | Lys        |
| Lys        | Asp<br>130 | Ile        | Thr        | Phe      | Tyr        | Met<br>135 | Pro        | Val        | Asp        | Asn        | Leu<br>140 | Gly        | Met        | Ala        | Val        |
| Ile<br>145 | Asp        | Trp        | Glu        | Glu      | Trp<br>150 | Arg        | Pro        | Thr        | Trp        | Ala<br>155 | Arg        | Asn        | Trp        | Lys        | Pro<br>160 |
| Lys        | Asp        | Val        | Tyr<br>165 | Lys      | Asn        | Arg        | Ser        | Ile<br>170 | Glu        | Leu        | Val        | Gln        | Gln<br>175 | Gln        | Asn        |
| Val        | Gln        | Leu<br>180 | Ser        | Leu      | Thr        | Glu        | Ala<br>185 | Thr        | Glu        | Lys        | Ala        | Lys        | Gln<br>190 | Glu        | Phe        |
| Glu        | Lys        | Ala<br>195 | Gly        | Lys      | Asp        | Phe        | Leu<br>200 | Val        | Glu        | Thr        | Ile        | Lys<br>205 | Leu        | Gly        | Lys        |
| Leu        | Leu<br>210 | Arg        | Pro        | Asn      | His        | Leu<br>215 | Trp        | Gly        | Tyr        | Tyr        | Leu<br>220 | Phe        | Pro        | Asp        | Cys        |
| Tyr<br>225 | Asn        | His        | His        | Tyr      | Lys<br>230 | Lys        | Pro        | Gly        | Tyr        | Asn<br>235 | Gly        | Ser        | Cys        | Phe        | Asn<br>240 |
| Val        | Glu        | Ile        | Lys<br>245 | Arg      | Asn        | Asp        | Asp        | Leu        | Ser        | Trp<br>250 | Leu        | Trp        | Asn        | Glu<br>255 | Ser        |
| Thr        | Ala        | Leu<br>260 | Tyr        | Pro      | Ser        | Ile        | Tyr        | Leu<br>265 | Asn        | Thr        | Gln        | Gln        | Ser<br>270 | Pro        | Val        |
| Ala        | Ala        | Thr<br>275 | Leu        | Tyr      | Val        | Arg        | Asn<br>280 | Arg        | Val        | Arg        | Glu        | Ala<br>285 | Ile        | Arg        | Val        |
| Ser        | Lys<br>290 | Ile        | Pro        | Asp      | Ala        | Lys<br>295 | Ser        | Pro        | Leu        | Pro        | Val<br>300 | Phe        | Ala        | Tyr        | Thr        |
| Arg<br>305 | Ile        | Val        | Phe        | Thr      | Asp<br>310 | Gln        | Val        | Leu        | Lys        | Phe<br>315 | Leu        | Ser        | Gln        | Asp        | Glu<br>320 |
| Leu        | Val        | Tyr        | Thr<br>325 | Phe      | Gly        | Glu        | Thr        | Val        | Ala<br>330 | Leu        | Gly        | Ala        | Ser        | Gly<br>335 | Ile        |
| Val        | Ile        | Trp<br>340 | Gly        | Thr      | Leu        | Ser        | Ile        | Met<br>345 | Arg        | Ser        | Met        | Lys        | Ser<br>350 | Cys        | Leu        |
| Leu        | Leu        | Asp<br>355 | Asn        | Tyr      | Met        | Glu        | Thr<br>360 | Ile        | Leu        | Asn        | Pro        | Tyr<br>365 | Ile        | Ile        | Asn        |
| Val        | Thr<br>370 | Leu        | Ala        | Ala      | Lys        | Met<br>375 | Cys        | Ser        | Gln        | Val        | Leu<br>380 | Cys        | Gln        | Glu        | Gln        |
| Gly<br>385 | Val        | Cys        | Ile        | Arg      | Lys<br>390 | Asn        | Trp        | Asn        | Ser        | Ser<br>395 | Asp        | Tyr        | Leu        | His        | Leu<br>400 |
| Asn        | Pro        | Asp        | Asn<br>405 | Phe      | Ala        | Ile        | Gln        | Leu        | Glu<br>410 | Lys        | Gly        | Gly        | Lys        | Phe        | Thr<br>415 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 472

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; зрелый HuPH20 36-507

&lt;400&gt; 55

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val | Ser | Ile | Leu |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Phe | Leu | Ile | Ile | Ser | Ser | Val | Ala |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 465 |     |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 56

&lt;211&gt; 470

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; зрелый HuPH20 36-505

&lt;400&gt; 56

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

[illegible]

<210> 57

$\langle 211 \rangle$  468

<212> Белок

<213> Homo sapiens

 $\langle 220 \rangle$ 

<223> зрелый НnPH20 36-503

<400> 57

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

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 165 170 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195 200 205  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn  
 435 440 445  
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu  
 450 455 460  
 Phe Leu Ile Ile  
 465

<210> 58

<211> 466

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> зрелый HuPH20 36-501

<400> 58

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val | Ser | Ile | Leu |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Phe | Leu |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 465 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 464

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; зрелый HuPH20 36-499

&lt;400&gt; 59

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val | Ser | Ile | Leu |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |

<210> 60  
 <211> 462  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> esHuPH20 36-497

<400> 60  
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 20 25 30  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 35 40 45  
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50 55 60  
 Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
 65 70 75 80  
 Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 85 90 95  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 100 105 110  
 Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 115 120 125  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
 130 135 140  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155 160  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 165 170 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195 200 205  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val | Ser |     |     |
|     |     | 450 |     |     |     | 455 |     |     |     |     |     | 460 |     |     |     |

&lt;210&gt; 61

&lt;211&gt; 460

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; esHuPH20 36-495

&lt;400&gt; 61

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     |     | 130 |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     |     | 210 |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     |     | 290 |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     | 420 |     |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |
|     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile |     |     |     |     |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 62

&lt;211&gt; 458

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; esHuPH20 36-493

&lt;400&gt; 62

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

```

Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
 290                      295          300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305                      310          315          320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
                      325          330          335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
                      340          345          350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
                      355          360          365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
                      370          375          380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385                      390          395          400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
                      405          410          415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
                      420          425          430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
                      435          440          445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met
                      450          455

```

<210> 63

<211> 456

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> esHuPH20 36-491

<400> 63

```

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

```

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn  
 435 440 445  
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala  
 450 455

<210> 64

<211> 454

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> зрелый HuPH20 36-489

<400> 64

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

Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 165 170 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195 200 205  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn  
 435 440 445  
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu  
 450

<210> 65

<211> 455

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> зрелый HuPH20 36-490

<400> 65

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

```

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
      100      105      110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
      115      120
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
      130      135      140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145      150      155      160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
      165      170      175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
      180      185      190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
      195      200      205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
      210      215      220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225      230      235      240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
      245      250      255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
      260      265      270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
      275      280      285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
      290      295      300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305      310      315      320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
      325      330      335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
      340      345      350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
      355      360      365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
      370      375      380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385      390      395      400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
      405      410      415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
      420      425      430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
      435      440      445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser
      450      455

```

<210> 66

<211> 452

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> зрелый HuPH20 36-487

<400> 66

```

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

```

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |  |  |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |  |  |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |  |  |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |  |  |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |  |  |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |  |  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |  |  |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |  |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |  |  |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |  |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |  |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |  |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |  |  |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |  |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |  |  |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |  |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |  |  |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |  |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |  |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |  |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |  |  |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |  |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |  |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |  |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |  |  |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |  |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |  |  |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |  |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |  |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |  |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |  |  |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |  |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |  |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |  |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |  |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |  |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |  |  |
|     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |  |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |  |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |  |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |  |  |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |  |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |  |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |  |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |  |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |  |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |  |  |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |  |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |  |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |  |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |  |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |  |
| Ala | Ser | Pro | Ser |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|     | 450 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |

&lt;210&gt; 67

&lt;211&gt; 450

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; зрелый HuPH20 36-485

&lt;400&gt; 67

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     | 35  |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     |     | 140 |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     | 420 |     |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     |     | 445 |     |     |



Ala Ser  
450

<210> 68  
<211> 449  
<212> Белок  
<213> Homo sapiens

<220>  
<223> Зрелый HuPH20 36-484

<400> 68  
Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp  
1 5 10 15  
Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
20 25 30  
Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
35 40 45  
Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
50 55 60  
Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
65 70 75 80  
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
85 90 95  
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
100 105 110  
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
115 120 125  
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
130 135 140  
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala  
145 150 155 160  
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
165 170 175  
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
180 185 190  
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
195 200 205  
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
210 215 220  
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
225 230 235 240  
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
245 250 255  
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
260 265 270  
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
275 280 285  
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
290 295 300  
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
305 310 315 320  
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
325 330 335  
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
340 345 350  
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
355 360 365  
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
370 375 380

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn  
 435 440 445  
 Ala

<210> 69  
 <211> 448  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> Зрелый HuPH20 36-483

<400> 69  
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 20 25 30  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 35 40 45  
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50 55 60  
 Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
 65 70 75 80  
 Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 85 90 95  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 100 105 110  
 Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 115 120 125  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
 130 135 140  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155 160  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 165 170 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195 200 205  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320

```

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
      325                      330                      335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
      340                      345                      350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
      355                      360                      365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
      370                      375                      380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
      385                      390                      395                      400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
      405                      410                      415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
      420                      425                      430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
      435                      440                      445

```

<210> 70

<211> 447

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-482

<400> 70

```

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

```

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr |     |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 446

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-481

&lt;400&gt; 71

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

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe  
 435 440 445

<210> 72

<211> 445

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-480

<400> 72

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

```

Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
      180                      185                      190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
      195                      200                      205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
      210                      215                      220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
      225                      230                      235                      240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
      245                      250                      255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
      260                      265                      270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
      275                      280                      285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
      290                      295                      300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
      305                      310                      315                      320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
      325                      330                      335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
      340                      345                      350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
      355                      360                      365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
      370                      375                      380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
      385                      390                      395                      400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
      405                      410                      415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
      420                      425                      430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
      435                      440                      445

```

<210> 73

<211> 479

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-479

<400> 73

```

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

```

Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
 130 135 140  
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro  
 145 150 155 160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 165 170 175  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
 180 185 190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln  
 465 470 475

<210> 74

<211> 443

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-478

<400> 74

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
| 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro |     |     |     |     |     |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 75

&lt;211&gt; 442

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-477



&lt;400&gt; 75

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     | 35  |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     | 115 |     |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu |     |     |     |     |     |     |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 76

&lt;211&gt; 441

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-476

&lt;400&gt; 76

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     |     | 140 |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     |     | 430 |     |

Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu  
 435 440

<210> 77

<211> 440

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-475

<400> 77

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     | 35  |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     | 115 |     |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     | 360 |     |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     |     | 380 |     |     |     |

Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr  
 435 440

<210> 78

<211> 439

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-474

<400> 78

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 20 25 30  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 35 40 45  
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50 55 60  
 Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
 65 70 75 80  
 Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 85 90 95  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 100 105 110  
 Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 115 120 125  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
 130 135 140  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155 160  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 165 170 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195 200 205  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu  
 435

<210> 79

<211> 438

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-473

<400> 79

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     | 360 |     |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     | 435 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 80

&lt;211&gt; 437

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-472

&lt;400&gt; 80

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

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro  
 435

<210> 81

<211> 436

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-471

<400> 81

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |  |  |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |  |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |  |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |  |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |  |  |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |  |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |  |  |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |  |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |  |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |  |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |  |  |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |  |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |  |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |  |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |  |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |  |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |  |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |  |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |  |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |  |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |  |  |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |  |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |  |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |  |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |  |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |  |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |  |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |  |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |  |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |  |
| Phe | Leu | Lys | Pro |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |

&lt;210&gt; 82

&lt;211&gt; 435

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-470

&lt;400&gt; 82

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



Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155 160  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 165 170 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195 200 205  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys  
 435

<210> 83

<211> 434

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-469

<400> 83

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

Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 100 105 110  
 Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 115 120 125  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
 130 135 140  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155 160  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 165 170 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195 200 205  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu

<210> 84

<211> 433

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-468

<400> 84

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
| 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 85

&lt;211&gt; 432

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-467

&lt;400&gt; 85

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |

&lt;210&gt; 86

&lt;211&gt; 431

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-466

&lt;400&gt; 86

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     | 35  |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp |     |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |

<210> 87  
 <211> 430  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> Зрелый HuPH20 36-465

<400> 87

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     |     | 140 |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile  
 420 425 430

<210> 88

<211> 429

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-464

<400> 88

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     | 360 |     |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |     |     |     |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 89

&lt;211&gt; 427

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-462

&lt;400&gt; 89

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     |     | 130 |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     |     | 210 |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     |     | 290 |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 90

&lt;211&gt; 425

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-460

&lt;400&gt; 90

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 91

&lt;211&gt; 423

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-458

&lt;400&gt; 91

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 92

&lt;211&gt; 421

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-456

&lt;400&gt; 92

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

```

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
      260      265      270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
      275      280      285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
      290      295      300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305      310      315      320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
      325      330      335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
      340      345      350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
      355      360      365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
      370      375      380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385      390      395      400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
      405      410      415
Thr Asp Ala Val Asp
      420

```

<210> 93

<211> 419

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-454

<400> 93

```

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

```

```

Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225          230          235          240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
          245          250          255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
          260          265          270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
          275          280          285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
          290          295          300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305          310          315          320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
          325          330          335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
          340          345          350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
          355          360          365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
          370          375          380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385          390          395          400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
          405          410          415
Thr Asp Ala

```

<210> 94

<211> 417

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-452

<400> 94

```

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

```

[illegible]

<210> 95

<211> 415

<212> Белок

<213> Homo sapiens

 $\langle 220 \rangle$ 

<223> Зрелый NiPH20 36-450

<400> 95

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys |     |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |

<210> 96

<211> 473

<212> Белок

<213> Homo sapiens

 $\langle 220 \rangle$ 

<223> Зрелый NiPH20 36-508

<400> 96

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

Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155 160  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 165 170 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195 200 205  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn  
 435 440 445  
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu  
 450 455 460  
 Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser  
 465 470

<210> 97

<211> 471

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-506

<400> 97

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



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val | Ser | Ile | Leu |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Phe | Leu | Ile | Ile | Ser | Ser | Val |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 98

&lt;211&gt; 469

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-504

<400> 98

[illegible]

<210> 99  
 <211> 467  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> Зрелый HuPH20 36-502

<400> 99

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     |     | 140 |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |

Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn  
 435 440 445  
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu  
 450 455 460  
 Phe Leu Ile  
 465

<210> 100

<211> 465

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-500

<400> 100

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
 20 25 30  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
 35 40 45  
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
 50 55 60  
 Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
 65 70 75 80  
 Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
 85 90 95  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
 100 105 110  
 Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
 115 120 125  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
 130 135 140  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155 160  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 165 170 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195 200 205  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335

Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn  
 435 440 445  
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu  
 450 455 460  
 Phe  
 465

<210> 101

<211> 463

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Зрелый HuPH20 36-498

<400> 101

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

```

Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
      260      265      270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
      275      280      285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
      290      295      300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305      310      315      320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
      325      330      335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
      340      345      350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
      355      360      365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
      370      375      380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385      390      395      400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
      405      410      415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
      420      425      430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
      435      440      445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile
      450      455      460

```

<210> 102

<211> 461

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> esHuPH20 36-496

<400> 102

```

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

```

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     |     | 270 |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val |     |     |     |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |

 $\langle 210 \rangle$  103

<211> 459

<212> Белок

<213> Homo sapiens

 $\langle 220 \rangle$ 

<223> esHuPH20 36-494

<400> 103

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

Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
 130 135 140  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala  
 145 150 155 160  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
 165 170 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
 180 185 190  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
 195 200 205  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
 210 215 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
 245 250 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
 260 265 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
 275 280 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
 290 295 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305 310 315 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
 355 360 365  
 Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly  
 370 375 380  
 Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys  
 385 390 395 400  
 Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp  
 405 410 415  
 Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
 420 425 430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn  
 435 440 445  
 Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe  
 450 455

<210> 104

<211> 457

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> esHuPH20 36-492

<400> 104

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



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr |     |     |     |     |     |     |     |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 105

&lt;211&gt; 453

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелый HuPH20 36-488

<400> 105

[illegible]

<210> 106  
 <211> 451  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> Зрелый HuPH20 36-486

<400> 106

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     | 35  |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     | 115 |     |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Ala | Ser | Pro |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|     |     | 450 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 107

&lt;211&gt; 509

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Человеческая PH20 1-509

&lt;400&gt; 107

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     |     | 130 |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     |     | 210 |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     |     | 290 |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |  |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     | 425 |     |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |  |
|     |     | 435 |     |     |     | 440 |     |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |  |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     | 475 |     |     |     |     |     | 480 |  |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val |  |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |  |
| Ser | Ile | Leu | Phe | Leu | Ile | Ile | Ser | Ser | Val | Ala | Ser | Leu |     |     |     |  |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     |     |     |     |  |

&lt;210&gt; 108

&lt;211&gt; 474

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Зрелая человеческая PH20 36-509

&lt;400&gt; 108

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

```

Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
                245                250                255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
                260                265                270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
                275                280                285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
                290                295                300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305                310                315                320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
                325                330                335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
                340                345                350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
                355                360                365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
                370                375                380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385                390                395                400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
                405                410                415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
                420                425                430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr Asn
                435                440                445
Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Thr Met Phe Ile Val Ser Ile Leu
                450                455                460
Phe Leu Ile Ile Ser Ser Val Ala Ser Leu
465                470

```

<210> 109

<211> 482

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> предшественник rHuPH20 1-482

<400> 109

```

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

```

Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
 165 170 175  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
 180 185 190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile  
 465 470 475 480  
 Phe Tyr

<210> 110

<211> 1446

<212> ДНК

<213> Homo sapiens

<220>

<223> ДНК, кодирующая предшественник растворимого rHuPH20

<400> 110

atgggagtg taaaattcaa gcacatcttt ttcagaagct ttgttaaatac aagtggagta 60  
 tcccagatag ttttcacctt ccttctgatt ccatgttgct tgactctgaa tttcagagca 120  
 cctcctgtta ttccaaatgt gcctttcttc tgggcctgga atgccccaaag tgaattttgt 180  
 cttggaaaat ttgatgagcc actagatatg agcctcttct ctttcatagg aagccccga 240  
 ataaacgcca ccgggcaagg tggtacaata ttttatgttg atagacttg ctactatcct 300  
 tacatagatt caatcacagg agtaactgtg aatggaggaa tccccagaa gatttcctta 360  
 caagaccatc tggacaaagc taagaaagac attacatatt atatgccagt agacaatttg 420  
 ggaatggctg ttattgactg ggaagaatgg agaccactt gggcaagaaa ctggaaacct 480

```

aaagatgttt acaagaatag gtctattgaa ttggttcagc aacaaaatgt acaacttagt 540
ctcacagagg cactgagaa agcaaaacaa gaatttgaaa aggcagggaa ggatttcctg 600
gtagagacta taaaattggg aaaattactt cggccaaatc acttggtggg ttattatctt 660
tttccggatt gttacaacca tcactataag aaaccgggtt acaatggaag ttgcttcaat 720
gtagaaataa aaagaaatga tgatctcagc tgggttggtg atgaaagcac tgctctttac 780
ccatccattt atttgaacac tcagcagctt cctgtagctg ctacactcta tgtgcgcaat 840
cgagttcggg aagccatcag agtttccaaa atacctgatg caaaaagtcc acttccgggtt 900
tttgcatata cccgcatagt ttttactgat caagttttga aattcctttc tcaagatgaa 960
cttgtgtata catttggcga aactgttgct ctgggtgctt ctggaattgt aatatgggga 1020
accctcagta taatgcgaag tatgaaatct tgcttgctcc tagacaatta catggagact 1080
atactgaatc cttacataat caacgtcaca ctagcagcca aaatgtgtag ccaagtgtt 1140
tgccaggagc aaggagtgtg tataaggaaa aactggaatt caagtgacta tcttcacctc 1200
aaccagata attttgctat tcaacttgag aaaggtggaa agttcacagt acgtggaaaa 1260
ccgacacttg aagacctgga gcaattttct gaaaaatttt attgcagctg ttatagcacc 1320
ttgagttgta aggagaaagc tgatgtaaaa gacactgatg ctgttgatgt gtgtattgct 1380
gatggtgtct gtatagatgc ttttctaaaa cctcccatgg agacagaaga acctcaaatt 1440
ttctac 1446

```

<210> 111

<211> 553

<212> Белок

<213> Bos taurus

<220>

<223> PH20 быка

<400> 111

```

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

```



Thr Gln Asn Ala Ala Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Gln Glu Ala Ile  
 275 280 285  
 Arg Leu Ser Lys Ile Ala Ser Val Glu Ser Pro Leu Pro Val Phe Val  
 290 295 300  
 Tyr Ala Arg Pro Val Phe Thr Asp Gly Ser Ser Thr Tyr Leu Ser Gln  
 305 310 315 320  
 Gly Asp Leu Val Asn Ser Val Gly Glu Ile Val Ser Leu Gly Ala Ser  
 325 330 335  
 Gly Ile Ile Met Trp Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ser Met Gln Ser  
 340 345 350  
 Cys Met Asn Leu Gly Thr Tyr Leu Asn Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile  
 355 360 365  
 Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys His  
 370 375 380  
 Asn Glu Gly Val Cys Thr Arg Lys His Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu  
 385 390 395 400  
 His Leu Asn Pro Met Asn Phe Ala Ile Gln Thr Gly Glu Gly Gly Lys  
 405 410 415  
 Tyr Thr Val Pro Gly Thr Val Thr Leu Glu Asp Leu Gln Lys Phe Ser  
 420 425 430  
 Asp Thr Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ala Asn Ile His Cys Lys Lys Arg  
 435 440 445  
 Val Asp Ile Lys Asn Val His Ser Val Asn Val Cys Met Ala Glu Asp  
 450 455 460  
 Ile Cys Ile Asp Ser Pro Val Lys Leu Gln Pro Ser Asp His Ser Ser  
 465 470 475 480  
 Ser Gln Glu Ala Ser Thr Thr Thr Phe Ser Ser Ile Ser Pro Ser Thr  
 485 490 495  
 Thr Thr Ala Thr Val Ser Pro Cys Thr Pro Glu Lys His Ser Pro Glu  
 500 505 510  
 Cys Leu Lys Val Arg Cys Ser Glu Val Ile Pro Asn Val Thr Gln Lys  
 515 520 525  
 Ala Cys Gln Ser Val Lys Leu Lys Asn Ile Ser Tyr Gln Ser Pro Ile  
 530 535 540  
 Gln Asn Ile Lys Asn Gln Thr Thr Tyr  
 545 550

<210> 112

<211> 545

<212> Белок

<213> *Oryctolagus cuniculus*

<220>

<223> PH20 кролика

<400> 112

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Ile | Pro | Gln | Leu | Gly | Pro | Leu | Gln | Gln | His | Leu | Thr | Lys | Leu | Arg |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Gln | Glu | Ile | Leu | Tyr | Tyr | Met | Pro | Lys | Asp | Asn | Val | Gly | Leu | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Leu | Pro | Thr | Trp | Leu | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Ile | Tyr | Arg | Ile | Lys | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Lys | Ser | Gln | His |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Gln | Tyr | Asn | His | Ser | Tyr | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Arg | Asp | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Met | Glu | Glu | Thr | Leu | Lys | Leu | Gly | Arg |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Asp | Lys | Pro | Asn | Leu | Tyr | Lys | Gly | Ser | Cys | Phe |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Asp | Ile | Glu | Lys | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Lys | Glu |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Ser | Thr | Ala | Leu | Phe | Pro | Ser | Val | Tyr | Leu | Thr | Ser | Arg | Ala | Arg | Ser |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Thr | Ala | Leu | Ser | Lys | Leu | Tyr | Val | Val | Arg | Asn | Arg | Val | His | Glu |
|     | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Asp | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Asn |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Phe | Val | Tyr | Thr | Arg | Leu | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Ile | Phe | Gln | Phe | Leu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Ser | His | His | Asp | Leu | Val | Tyr | Thr | Ile | Gly | Glu | Ile | Val | Ala | Leu | Gly |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Val | Trp | Gly | Ser | Gln | Ser | Leu | Ala | Arg | Ser | Met |
|     |     |     | 340 |     |     |     | 345 |     |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Lys | Ser | Cys | Leu | His | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Lys | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro |
|     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Tyr | Leu | Ile | Asn | Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Asn | Gln | Val | Leu |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys | Thr | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Pro | Asn | Asp |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Gly | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Gly | Ser | Asn |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Gly | Thr | Tyr | Lys | Val | Asp | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Thr | Asp | Leu | Glu | Gln |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Ser | Lys | Asn | Phe | Gln | Cys | Ser | Cys | Tyr | Thr | Asn | Leu | Asn | Cys | Lys |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Glu | Arg | Thr | Asp | Met | Asn | Asn | Val | Arg | Thr | Val | Asn | Val | Cys | Ala | Val |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Glu | Asn | Val | Cys | Ile | Asp | Thr | Asn | Val | Gly | Pro | Gln | Ala | Val | Thr | Tyr |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Ala | Pro | Lys | Glu | Lys | Lys | Asp | Val | Ala | His | Ile | Leu | Ser | Asn | Thr | Thr |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Ser | Ile | Asn | Ser | Ser | Thr | Thr | Met | Ser | Leu | Pro | Phe | Pro | Arg | Lys | His |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |
| Val | Ser | Gly | Cys | Leu | Leu | Val | Leu | Cys | Met | Tyr | Ser | Gln | Tyr | Leu | Asn |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |
| Ile | Cys | Tyr | Arg | Leu | Val | Ala | Ile | Gly | Ile | Gln | His | Gly | Tyr | Tyr | Leu |
|     | 530 |     |     |     |     | 535 |     |     |     |     | 540 |     |     |     |     |
| Lys |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| 545 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 113

&lt;211&gt; 114

&lt;212&gt; Белок

<213> *Ovis aries*

<220>

<223> Овечий PH20 (частично)

<400> 113

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

<210> 114

<211> 510

<212> Белок

<213> *Macaca fascicularis*

<220>

<223> PH20 обезьяны циномогус

<400> 114

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Arg | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asp |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Val | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Val | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Asn | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Val | Tyr | Ala |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Leu | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Arg | Glu | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Ser | Thr | Leu | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Ser | Leu | Ser | Ile | Thr | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Thr | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asp | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Asp | Ile | Arg | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | His | Gly | Lys | Pro | Thr | Val | Glu | Asp | Leu | Glu | Glu | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Thr | Asn | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Ser | Leu | Lys | Pro | Pro | Val | Glu | Thr | Glu | Gly | Ser | Pro | Pro |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Ile | Phe | Tyr | Asn | Thr | Ser | Ser | Ser | Thr | Val | Ser | Thr | Thr | Met | Phe | Ile |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Val | Asn | Ile | Leu | Phe | Leu | Ile | Ile | Ser | Ser | Val | Ala | Ser | Leu |     |     |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |

&lt;210&gt; 115

&lt;211&gt; 529

&lt;212&gt; Белок

<213> *Cavia porcellus*

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PH20 морской свинки

&lt;400&gt; 115

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Pro | Gln | Leu | Met | Asn | Leu | Gln | Gln | His | Leu | Arg | Lys | Ser | Arg | Gln |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Asp | Ile | Leu | Phe | Tyr | Met | Pro | Thr | Asp | Ser | Val | Gly | Leu | Ala | Val | Ile |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Thr | Arg | Asn | Trp | Arg | Pro | Lys |
|     | 145 |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Asp | Ile | Tyr | Arg | Asn | Lys | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Lys | Ser | Gln | His | Pro |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     | 175 |     |
| Gln | Tyr | Asn | His | Ser | Tyr | Ala | Val | Ala | Val | Ala | Lys | Arg | Asp | Phe | Glu |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Arg | Thr | Gly | Lys | Ala | Phe | Met | Leu | Glu | Thr | Leu | Lys | Leu | Gly | Lys | Ser |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Arg | Pro | Ser | Ser | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Asn | Thr | His | Phe | Thr | Lys | Pro | Asn | Tyr | Asp | Gly | His | Cys | Pro | Pro | Ile |
|     | 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Glu | Leu | Gln | Arg | Asn | Asn | Asp | Leu | Gln | Trp | Leu | Trp | Asn | Asp | Ser | Thr |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Val | Tyr | Leu | Thr | Ser | Arg | Val | Arg | Ser | Ser | Gln |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Asn | Gly | Ala | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | His | Glu | Ser | Ile | Arg | Val |
|     | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Leu | Met | Asp | Asp | Lys | Asn | Pro | Leu | Pro | Ile | Tyr | Val | Tyr | Ile |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Leu | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Thr | Thr | Thr | Phe | Leu | Glu | Leu | Asp | Asp |
|     | 305 |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | His | Ser | Val | Gly | Glu | Ile | Val | Pro | Leu | Gly | Val | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ile | Ile | Trp | Gly | Ser | Leu | Ser | Leu | Thr | Arg | Ser | Leu | Val | Ser | Cys | Ile |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Gly | Leu | Glu | Asn | Tyr | Met | Lys | Gly | Thr | Leu | Leu | Pro | Tyr | Leu | Ile | Asn |
|     | 355 |     |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Gly | Gln | Val | Leu | Cys | Lys | Asn | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Ile | Cys | Thr | Arg | Lys | Asp | Trp | Asn | Thr | Asn | Thr | Tyr | Leu | His | Leu |
|     | 385 |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Ala | Thr | Asn | Phe | Asp | Ile | Glu | Leu | Gln | Gln | Asn | Gly | Lys | Phe | Val |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | His | Gly | Lys | Pro | Ser | Leu | Glu | Asp | Leu | Gln | Glu | Phe | Ser | Lys | Asn |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | His | Cys | Ser | Cys | Tyr | Thr | Asn | Val | Ala | Cys | Lys | Asp | Arg | Leu | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | His | Asn | Val | Arg | Ser | Val | Asn | Val | Cys | Thr | Ala | Asn | Asn | Ile | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Val | Leu | Asn | Phe | Pro | Ser | Leu | Asp | Asp | Asp | Asp | Glu | Pro |
|     | 465 |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Pro | Ile | Thr | Asp | Asp | Thr | Ser | Gln | Asn | Gln | Asp | Ser | Ile | Ser | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Thr | Ser | Ser | Ala | Pro | Pro | Ser | Ser | His | Ile | Leu | Pro | Lys | Asp | Leu | Ser |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |
| Trp | Cys | Leu | Phe | Leu | Leu | Ser | Ile | Phe | Ser | Gln | His | Trp | Lys | Tyr | Leu |
|     |     | 515 |     |     |     |     | 520 |     |     |     |     | 525 |     |     |     |

Leu

&lt;210&gt; 116

&lt;211&gt; 512

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Rattus norvegicus

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; крысиный PH20

&lt;400&gt; 116

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Glu | Leu | Gln | Phe | Lys | Trp | Leu | Phe | Trp | Arg | Ser | Phe | Ala | Glu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Gly | Gly | Thr | Phe | Gln | Thr | Val | Leu | Ile | Phe | Leu | Phe | Ile | Pro | Tyr |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Val | Asp | Tyr | Arg | Ala | Thr | Pro | Val | Leu | Ser | Asp | Thr | Thr |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Val | Trp | Val | Trp | Asn | Val | Pro | Thr | Glu | Ala | Cys | Val | Glu | Asn | Val |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Thr | Glu | Pro | Ile | Asp | Leu | Ser | Phe | Phe | Ser | Leu | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Lys | Thr | Ala | Ile | Gly | Gln | Pro | Val | Thr | Leu | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Asn | Tyr | Pro | His | Ile | Asp | Ala | Gln | Gln | Thr | Glu | His | His | Gly | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Ile | Pro | Gln | Lys | Gly | Asp | Leu | Thr | Thr | His | Leu | Val | Lys | Ala | Lys | Glu |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Asp | Val | Glu | Arg | Tyr | Ile | Pro | Thr | Asp | Lys | Leu | Gly | Leu | Ala | Ile | Ile |
|     | 130 |     |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |
| Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Met | Arg | Asn | Trp | Thr | Pro | Lys |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Asp | Ile | Tyr | Arg | Asn | Lys | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Ala | Ala | Asp | Pro |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Ala | Ile | Asn | Ile | Thr | Glu | Ala | Thr | Val | Arg | Ala | Lys | Ala | Gln | Phe | Glu |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Gly | Ala | Ala | Lys | Glu | Phe | Met | Glu | Gly | Thr | Leu | Lys | Leu | Gly | Lys | His |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Ile | Arg | Pro | Lys | His | Leu | Trp | Gly | Phe | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Asn | Asn | Lys | Phe | Gln | Val | Asp | Asn | Tyr | Asp | Gly | Gln | Cys | Pro | Asp | Val |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Glu | Lys | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Asp | Trp | Leu | Trp | Lys | Glu | Ser | Thr |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Gly | Leu | Tyr | Pro | Ser | Val | Tyr | Leu | Lys | Lys | Asp | Leu | Lys | Ser | Ser | Arg |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Lys | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Tyr | Arg | Val | Leu | Glu | Ser | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Val | Ser | Asp | Glu | Ser | Asn | Pro | Val | Pro | Ile | Phe | Val | Tyr | Ile |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Leu | Val | Phe | Thr | Asp | His | Val | Ser | Glu | Tyr | Leu | Leu | Glu | Asp | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Asn | Thr | Ile | Gly | Glu | Ile | Val | Ala | Gln | Gly | Thr | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ile | Ile | Trp | Asp | Ala | Met | Ser | Leu | Ala | Gln | Arg | Ser | Ala | Gly | Cys | Pro |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Leu | Arg | Gln | Tyr | Met | Lys | Thr | Thr | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Val | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Thr | Leu | Cys | Lys | Glu | Lys |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Met | Cys | Ser | Arg | Lys | Thr | Glu | Ser | Ser | Asp | Ala | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asp | Pro | Ser | Ser | Phe | Ser | Ile | Asn | Val | Thr | Glu | Ala | Gly | Lys | Tyr | Glu |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Leu | Gly | Lys | Pro | Glu | Val | Lys | Asp | Leu | Glu | Tyr | Phe | Ser | Glu | His |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     | 430 |     |     |     |
| Phe | Lys | Cys | Ser | Cys | Phe | Ser | Lys | Met | Thr | Cys | Glu | Glu | Thr | Ser | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Arg | Ser | Ile | Gln | Asp | Val | Asn | Val | Cys | Met | Gly | Asp | Asn | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Lys | Ala | Thr | Leu | Gly | Pro | Asn | Ser | Ala | Phe | His | Leu | Leu | Pro | Gly |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Lys | Gly | Leu | Leu | Leu | Met | Thr | Thr | Leu | Ala | His | Ile | Leu | His | His | Leu |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Pro | His | Asp | Ile | Phe | Val | Phe | Pro | Trp | Lys | Met | Leu | Val | Ser | Thr | Pro |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |

&lt;210&gt; 117

&lt;211&gt; 512

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; МЫШИНЫЙ PH20

&lt;400&gt; 117

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Glu | Leu | Arg | Phe | Lys | His | Leu | Phe | Trp | Gly | Ser | Phe | Val | Glu |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Gly | Gly | Thr | Phe | Gln | Thr | Val | Leu | Ile | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Val | Asp | Tyr | Arg | Ala | Pro | Ile | Leu | Ser | Asn | Thr | Thr |     |
|     |     | 35  |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ile | Trp | Asn | Val | Pro | Thr | Glu | Arg | Cys | Val | Gly | Asn | Val |
|     | 50  |     |     |     | 55  |     |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asn | Asp | Pro | Ile | Asp | Leu | Ser | Phe | Phe | Ser | Leu | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     |     | 80  |
| Lys | Thr | Ala | Thr | Gly | Gln | Pro | Val | Thr | Leu | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Leu | Tyr | Pro | His | Ile | Asp | Ala | Asn | Gln | Ala | Glu | His | Tyr | Gly | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Ile | Pro | Gln | Arg | Gly | Asp | Tyr | Gln | Ala | His | Leu | Arg | Lys | Ala | Lys | Thr |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Asp | Ile | Glu | His | Tyr | Ile | Pro | Asp | Asp | Lys | Leu | Gly | Leu | Ala | Ile | Ile |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Leu | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys |
| 145 |     |     |     | 150 |     |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Asp | Asn | Tyr | Arg | Asn | Lys | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Ser | Thr | Asn | Pro |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |     |
| Gly | Leu | Ser | Ile | Thr | Glu | Ala | Thr | Gln | Lys | Ala | Ile | Gln | Gln | Phe | Glu |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Ala | Gly | Arg | Lys | Phe | Met | Glu | Gly | Thr | Leu | His | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Arg | Pro | Asn | Gln | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Asn | Asn | Lys | Phe | Gln | Asp | Pro | Lys | Tyr | Asp | Gly | Gln | Cys | Pro | Ala | Val |
| 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Glu | Lys | Lys | Arg | Asn | Asp | Asn | Leu | Lys | Trp | Leu | Trp | Lys | Ala | Ser | Thr |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |     |
| Gly | Leu | Tyr | Pro | Ser | Val | Tyr | Leu | Lys | Lys | Asp | Leu | Lys | Ser | Asn | Arg |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Gln | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Tyr | Arg | Val | Val | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Val | Gly | Asn | Ala | Ser | Asp | Pro | Val | Pro | Ile | Phe | Val | Tyr | Ile |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Leu | Val | Phe | Thr | Asp | Arg | Thr | Ser | Glu | Tyr | Leu | Leu | Glu | Asp | Asp |
| 305 |     |     |     | 310 |     |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Asn | Thr | Ile | Gly | Glu | Ile | Val | Ala | Leu | Gly | Thr | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ile | Ile | Trp | Asp | Ala | Met | Ser | Leu | Ala | Gln | Arg | Ala | Ala | Gly | Cys | Pro |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Leu | His | Lys | Tyr | Met | Gln | Thr | Thr | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Val | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Thr | Leu | Cys | Asn | Glu | Lys |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Met | Cys | Ser | Arg | Arg | Lys | Glu | Ser | Ser | Asp | Val | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Ser | His | Phe | Asp | Ile | Met | Leu | Thr | Glu | Thr | Gly | Lys | Tyr | Glu |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Leu | Gly | Asn | Pro | Arg | Val | Gly | Asp | Leu | Glu | Tyr | Phe | Ser | Glu | His |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Lys | Cys | Ser | Cys | Phe | Ser | Arg | Met | Thr | Cys | Lys | Glu | Thr | Ser | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asn | Val | Gln | Asp | Val | Asn | Val | Cys | Val | Gly | Asp | Asn | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Lys | Ala | Lys | Val | Glu | Pro | Asn | Pro | Ala | Phe | Tyr | Leu | Leu | Pro | Gly |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Lys | Ser | Leu | Leu | Phe | Met | Thr | Thr | Leu | Gly | His | Val | Leu | Tyr | His | Leu |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Pro | Gln | Asp | Ile | Phe | Val | Phe | Pro | Arg | Lys | Thr | Leu | Val | Ser | Thr | Pro |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |

&lt;210&gt; 118

&lt;211&gt; 520

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Ovis aries

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Овечий PH20

&lt;400&gt; 118

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



Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asn Ile Lys Leu Lys Ser Thr Pro Lys Ala  
 225 230 235 240  
 Ala Phe Tyr Val Arg Asn Arg Val Gln Glu Ala Ile Arg Leu Ser Lys  
 245 250 255  
 Ile Ala Ser Val Glu Ser Pro Leu Pro Val Phe Val Tyr His Arg Pro  
 260 265 270  
 Val Phe Thr Asp Gly Ser Ser Thr Tyr Leu Ser Gln Gly Asp Leu Val  
 275 280 285  
 Asn Ser Val Gly Glu Ile Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Ile Met  
 290 295 300  
 Trp Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Thr Met Gln Ser Cys Met Asn Leu  
 305 310 315 320  
 Gly Asn Tyr Asn Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
 325 330 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys His Asp Glu Gly Val Cys  
 340 345 350  
 Thr Arg Lys Gln Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Ile  
 355 360 365  
 Met Asn Phe Ala Ile Gln Thr Gly Lys Gly Gly Lys Tyr Thr Val Pro  
 370 375 380  
 Gly Lys Val Thr Leu Glu Asp Leu Gln Thr Phe Ser Asp Lys Phe Tyr  
 385 390 395 400  
 Cys Ser Cys Tyr Ala Asn Ile Asn Cys Lys Lys Arg Val Asp Ile Lys  
 405 410 415  
 Asn Val His Ser Val Asn Val Cys Met Ala Glu Asp Ile Cys Ile Glu  
 420 425 430  
 Gly Pro Val Lys Leu Gln Pro Ser Asp His Ser Ser Ser Gln Asn Glu  
 435 440 445  
 Ala Ser Thr Thr Thr Val Ser Ser Ile Ser Pro Ser Thr Thr Ala Thr  
 450 455 460  
 Thr Val Val Ser Pro Cys Thr Pro Glu Lys Gln Ser Pro Glu Cys Leu  
 465 470 475 480  
 Lys Val Arg Cys Leu Glu Ala Ile Ala Asn Val Thr Gln Thr Gly Cys  
 485 490 495  
 Gln Gly Val Lys Trp Lys Asn Thr Ser Ser Gln Ser Gln Ser Ser Ile  
 500 505 510  
 Gln Asn Ile Lys Asn Gln Thr Thr  
 515 520

<210> 119

<211> 474

<212> Белок

<213> Bos taurus

<220>

<223> PH20 коровы

<400> 119

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

Leu Gly Tyr Tyr Pro His Ile Asp Glu Lys Thr Gly Lys Thr Val Phe  
 100 105 110  
 Gly Gly Ile Pro Gln Leu Gly Asn Leu Lys Ser His Leu Glu Lys Ala  
 115 120 125  
 Lys Asn Asp Ile Ala Tyr Tyr Ile Pro Asn Asp Ser Val Gly Leu Ala  
 130 135 140  
 Val Ile Asp Trp Glu Asn Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys  
 145 150 155 160  
 Pro Lys Asp Val Tyr Arg Asp Glu Ser Val Glu Leu Val Leu Gln Lys  
 165 170 175  
 Asn Pro Gln Leu Ser Phe Pro Glu Ala Ser Lys Ile Ala Lys Val Asp  
 180 185 190  
 Phe Glu Thr Ala Gly Lys Ser Phe Met Gln Glu Thr Leu Lys Leu Gly  
 195 200 205  
 Lys Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp  
 210 215 220  
 Cys Tyr Asn His Asn His Asn Gln Pro Thr Tyr Asn Gly Asn Cys Pro  
 225 230 235 240  
 Asp Val Glu Lys Arg Arg Asn Asp Asp Leu Glu Trp Leu Trp Lys Glu  
 245 250 255  
 Ser Thr Ala Leu Phe Pro Ser Val Tyr Leu Asn Ile Arg Leu Lys Ser  
 260 265 270  
 Thr Gln Asn Ala Ala Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Gln Glu Ala Ile  
 275 280 285  
 Arg Leu Ser Lys Ile Ala Ser Val Glu Ser Pro Leu Pro Val Phe Val  
 290 295 300  
 Tyr Ala Arg Pro Val Phe Thr Asp Gly Ser Ser Thr Tyr Leu Ser Gln  
 305 310 315 320  
 Gly Asp Leu Val Asn Ser Val Gly Glu Ile Val Ser Leu Gly Ala Ser  
 325 330 335  
 Gly Ile Ile Met Trp Gly Ser Leu Asn Leu Ser Leu Ser Val Gln Ser  
 340 345 350  
 Cys Met Asn Leu Gly Thr Tyr Leu Asn Thr Thr Leu Asn Pro Tyr Ile  
 355 360 365  
 Ile Asn Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys His  
 370 375 380  
 Asp Gly Gly Val Cys Thr Arg Lys His Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu  
 385 390 395 400  
 His Leu Asn Pro Met Asn Phe Ala Ile Gln Thr Gly Glu Gly Gly Lys  
 405 410 415  
 Tyr Thr Val Pro Gly Thr Leu Thr Leu Glu Asp Leu Gln Lys Phe Ser  
 420 425 430  
 Asp Thr Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Asn Leu Ser Cys Lys Lys Arg  
 435 440 445  
 Val Asp Ile Lys Asn Val His Ser Val Asp Val Cys Met Ala Glu Asp  
 450 455 460  
 Val Cys Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro  
 465 470

<210> 120

<211> 517

<212> Белок

<213> *Ovis aries*

<220>

<223> Овечий PH20 (Halozyme)

<400> 120

Asp Phe Arg Ala Pro Pro Leu Ile Ser Asn Thr Ser Phe Leu Trp Ala  
 1 5 10 15

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Trp | Asn | Ala | Pro | Ala | Glu | Arg | Cys | Ile | Lys | Ile | Phe | Lys | Leu | Pro | Pro |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Asp | Leu | Arg | Leu | Phe | Ser | Val | Lys | Gly | Ser | Pro | Gln | Lys | Ser | Ala | Thr |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Gly | Gln | Phe | Ile | Thr | Leu | Phe | Tyr | Ala | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr | Pro |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| His | Ile | Asp | Glu | Lys | Thr | Gly | Asn | Thr | Val | Tyr | Gly | Gly | Ile | Pro | Gln |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Leu | Gly | Asn | Leu | Lys | Asn | His | Leu | Glu | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile | Ala |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Tyr | Tyr | Ile | Pro | Asn | Asp | Ser | Val | Gly | Leu | Ala | Val | Ile | Asp | Trp | Glu |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Asn | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val | Tyr |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Arg | Asp | Glu | Ser | Val | Glu | Leu | Val | Leu | Gln | Lys | Asn | Pro | Gln | Leu | Ser |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Phe | Pro | Glu | Ala | Ser | Lys | Ile | Ala | Lys | Val | Asp | Phe | Glu | Thr | Ala | Gly |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Ser | Phe | Met | Gln | Glu | Thr | Leu | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg | Pro |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His | Asn |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Tyr | Asn | Gln | Pro | Thr | Tyr | Asn | Gly | Asn | Cys | Ser | Asp | Leu | Glu | Lys | Arg |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Asp | Trp | Leu | Trp | Lys | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu | Phe |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Pro | Ser | Val | Tyr | Leu | Asn | Ile | Lys | Leu | Lys | Ser | Thr | Pro | Lys | Ala | Ala |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Phe | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Gln | Glu | Ala | Ile | Arg | Leu | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Ala | Ser | Val | Glu | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Val | Tyr | His | Arg | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gly | Ser | Ser | Thr | Tyr | Leu | Ser | Gln | Gly | Asp | Leu | Val | Asn |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Val | Gly | Glu | Ile | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Ile | Met | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Ser | Leu | Asn | Leu | Ser | Leu | Thr | Met | Gln | Ser | Cys | Met | Asn | Leu | Gly |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Leu | Asn | Thr | Thr | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | His | Asp | Glu | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Thr | Arg | Lys | Gln | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Met |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Thr | Gly | Lys | Gly | Gly | Lys | Tyr | Thr | Val | Pro | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Val | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Gln | Thr | Phe | Ser | Asp | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ala | Asn | Ile | Asn | Cys | Lys | Lys | Arg | Val | Asp | Ile | Lys | Asn |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | His | Ser | Val | Asn | Val | Cys | Met | Ala | Glu | Asp | Ile | Cys | Ile | Glu | Gly |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Pro | Val | Lys | Leu | Gln | Pro | Ser | Asp | His | Ser | Ser | Ser | Gln | Asn | Glu | Ala |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Ser | Thr | Thr | Thr | Val | Ser | Ser | Ile | Ser | Pro | Ser | Thr | Thr | Ala | Thr | Thr |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Val | Ser | Pro | Cys | Thr | Pro | Glu | Lys | Gln | Ser | Pro | Glu | Cys | Leu | Lys | Val |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Arg | Cys | Leu | Glu | Ala | Ile | Ala | Asn | Val | Thr | Gln | Thr | Gly | Cys | Gln | Gly |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |

Val Lys Trp Lys Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Ile Gln Asn Ile Lys  
                   500                                  505                                  510  
 Asn Gln Thr Thr Tyr  
                   515

<210> 121  
 <211> 1620  
 <212> ДНК  
 <213> Ovis aries

<220>  
 <223> ДНК, кодирующая овечий РН20, приведенный в SEQ ID NO:118

<400> 121  
 ttttccgtgt tggttggctc tggacttcag agcaccscct ctcatttcaa acacttcttt 60  
 cctctgggcc tggaatgccc cagctgaacg ttgtattaaa atctttaaac tacctccaga 120  
 tctgagactc ttctctgtaa aaggaagccc ccaaaaaagt gctacgggac aatttattac 180  
 attattttat gctgatagac ttggctacta tcctcatata gatgaaaaaa caggcaaacac 240  
 tgtatatgga ggaattcccc agttgggaaa cttaaaaaat catttggaaa aagccaaaaa 300  
 agacattgcc tattacatac caaatgacag cgtgggcttg gcggtcattg actgggaaaa 360  
 ctggaggcct acctgggcaa gaaactggaa acctaaagat gtttacaggg atgagtctgt 420  
 tgagttgggt ctgcaaaaaa atccacaact cagtttccca gaggttcca agattgcaaa 480  
 agtggatttt gagacagcag gaaagagttt catgcaagag actttaaaac tgggaaaaatt 540  
 acttcggcca aatcacttat ggggttatta tctttttcct gattgttaca atcataatta 600  
 taaccagcct acttacaatg gaaattgctc tgatttagaa aaaaggagaa atgatgatct 660  
 cgactggttg tggaaggaaa gcaactgccct tttcccttct gtttatttga atatcaagtt 720  
 aaaatctact ccaaaagctg ccttctatgt tcgtaatcgt gtccaggaag ccattcggtt 780  
 gtctaaaata gcgagtgttg aaagtccact tcccgttttt gtatatcacc gtccagtttt 840  
 tactgatggg tcttcaacat acctttctca gggtgacctt gtgaattcgg ttggtgagat 900  
 cgttgctcta ggtgcctctg ggattataat gtggggcagt ctcaatctaa gcctaactat 960  
 gcaatcttgc atgaacctag gcaattactt gaacactaca ctgaatcctt acataatcaa 1020  
 cgtcacccta gcagccaaaa tgtgcagcca agtgctttgc cacgatgaag gagtgtgtac 1080  
 aaggaaacaa tggaattcaa gcgactatct tcacctgaac ccaatgaatt ttgctattca 1140  
 aactgggaaa ggtggaaaat acacagtacc tgggaaagtc acacttgaag acctgcaaac 1200  
 gttttctgat aaattttatt gcagttgtta tgccaacatc aactgtaaga agagagttga 1260  
 tataaaaaat gttcatagtg ttaatgtatg tatggcagaa gacatttcta tagagggcc 1320  
 tgtgaagtta caaccagtg atcattcctc tagccagaat gaggcattca ctaccaccgt 1380  
 cagtcagtac tcaccctcta ctacagccac cacagtatct ccatgtactc ctgagaaaca 1440  
 gtcccctgag tgcctcaaag tcaggtgttt ggaagccatc gccaacgtca cccaaacggg 1500  
 gtgtcaaggt gttaaatgga agaacacttc cagtcagtca agtattcaaa atattaaaaa 1560  
 tcaacaacc tattaaaaa taaattcagt gcttataaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1620

<210> 122  
 <211> 447  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> растворимый rHuРН20 36-482

<400> 122  
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp  
   1                  5                  10                  15  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
                   20                  25                  30  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
                   35                  40                  45  
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
                   50                  55                  60

```

Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro
65          70          75          80
Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile
      85          90          95
Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp
      100          105          110
Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val
      115          120          125
Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu
      130          135          140
Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala
145          150          155          160
Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg
      165          170          175
Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His
      180          185          190
His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile
      195          200          205
Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu
      210          215          220
Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr
225          230          235          240
Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile
      245          250          255
Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val
      260          265          270
Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr
      275          280          285
Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp
      290          295          300
Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp
305          310          315          320
Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
      325          330          335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
      340          345          350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
      355          360          365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
      370          375          380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
385          390          395          400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
      405          410          415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
      420          425          430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe Tyr
      435          440          445

```

<210> 123

<211> 446

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> растворимый rHuPH20 36-481

<400> 123

```

Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp
1          5          10          15

```

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     | 60  |     |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe |     |     |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |

&lt;210&gt; 124

&lt;211&gt; 445

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; растворимый rHuPH20 36-480

&lt;400&gt; 124

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     | 35  |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     | 85  |     |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     | 325 |     |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     | 405 |     |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     | 420 |     |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |     |     |     |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |

<210> 125  
 <211> 444  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> растворимый rHuPh20 36-479

<400> 125

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | Phe | Leu | Trp |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | Asp | Glu | Pro |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | Ile | Asn | Ala |
|     | 35  |     |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | Gly | Tyr | Tyr |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | Gly | Ile | Pro |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | Lys | Asp | Ile |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | Ile | Asp | Trp |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | Lys | Asp | Val |
|     | 115 |     |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     | 245 |     |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |



Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala  
                   420                  425                  430  
 Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln  
                   435                  440

<210> 126  
 <211> 443  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> растворимый rHuPH20 36-478

<400> 126  
 Leu Asn Phe Arg Ala Pro Pro Val Ile Pro Asn Val Pro Phe Leu Trp  
   1                  5                  10                  15  
 Ala Trp Asn Ala Pro Ser Glu Phe Cys Leu Gly Lys Phe Asp Glu Pro  
                   20                  25                  30  
 Leu Asp Met Ser Leu Phe Ser Phe Ile Gly Ser Pro Arg Ile Asn Ala  
                   35                  40                  45  
 Thr Gly Gln Gly Val Thr Ile Phe Tyr Val Asp Arg Leu Gly Tyr Tyr  
   50                  55                  60  
 Pro Tyr Ile Asp Ser Ile Thr Gly Val Thr Val Asn Gly Gly Ile Pro  
  65                  70                  75                  80  
 Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys Lys Asp Ile  
                   85                  90                  95  
 Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val Ile Asp Trp  
                  100                 105                 110  
 Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro Lys Asp Val  
  115                 120                 125  
 Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn Val Gln Leu  
  130                 135                 140  
 Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe Glu Lys Ala  
 145                 150                 155                 160  
 Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys Leu Leu Arg  
                  165                 170                 175  
 Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys Tyr Asn His  
                  180                 185                 190  
 His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn Val Glu Ile  
                  195                 200                 205  
 Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser Thr Ala Leu  
  210                 215                 220  
 Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val Ala Ala Thr  
 225                 230                 235                 240  
 Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val Ser Lys Ile  
                  245                 250                 255  
 Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr Arg Ile Val  
                  260                 265                 270  
 Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu Leu Val Tyr  
                  275                 280                 285  
 Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile Val Ile Trp  
  290                 295                 300  
 Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu Leu Leu Asp  
 305                 310                 315                 320  
 Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu  
                  325                 330                 335  
 Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys  
                  340                 345                 350  
 Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp  
                  355                 360                 365

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro |     |     |     |     |     |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 127

&lt;211&gt; 442

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; растворимый rHuPh20 36-477

&lt;400&gt; 127

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

```

Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn Val Thr Leu
      325      330      335
Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln Gly Val Cys
      340      345      350
Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu Asn Pro Asp
      355      360      365
Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr Val Arg Gly
      370      375      380
Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys Phe Tyr Cys
      385      390      395      400
Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp Val Lys Asp
      405      410      415
Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys Ile Asp Ala
      420      425      430
Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu
      435      440

```

<210> 128

<211> 467

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> sHuPH20 предшественник 1-467

<400> 128

```

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

```

Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala  
 465

<210> 129

<211> 477

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> sHuPH20 предшественник 1-477

<400> 129

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

Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
 195 200 205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
 210 215 220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
 225 230 235 240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
 245 250 255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
 260 265 270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
 275 280 285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
 290 295 300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
 340 345 350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
 355 360 365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
 370 375 380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385 390 395 400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
 405 410 415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
 420 425 430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
 435 440 445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
 450 455 460  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu  
 465 470 475

<210> 130

<211> 478

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> sHuPH20 предшественник 1-478

<400> 130

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

Gly Ile Pro Gln Lys Ile Ser Leu Gln Asp His Leu Asp Lys Ala Lys  
                   115                  120                  125  
 Lys Asp Ile Thr Phe Tyr Met Pro Val Asp Asn Leu Gly Met Ala Val  
                   130                  135                  140  
 Ile Asp Trp Glu Glu Trp Arg Pro Thr Trp Ala Arg Asn Trp Lys Pro  
                   145                  150                  155                  160  
 Lys Asp Val Tyr Lys Asn Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn  
                   165                  170                  175  
 Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe  
                   180                  185                  190  
 Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys  
                   195                  200                  205  
 Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys  
                   210                  215                  220  
 Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn  
                   225                  230                  235                  240  
 Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser  
                   245                  250                  255  
 Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val  
                   260                  265                  270  
 Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val  
                   275                  280                  285  
 Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr  
                   290                  295                  300  
 Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu  
                   305                  310                  315                  320  
 Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile  
                   325                  330                  335  
 Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu  
                   340                  345                  350  
 Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
                   355                  360                  365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
                   370                  375                  380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
                   385                  390                  395                  400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
                   405                  410                  415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
                   420                  425                  430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
                   435                  440                  445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
                   450                  455                  460  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro  
                   465                  470                  475

<210> 131

<211> 479

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> sHuPH20 предшественник 1-479

<400> 131

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys  
                   1                  5                  10                  15  
 Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys  
                   20                  25                  30

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln |     |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 132

&lt;211&gt; 480

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; sHuPH20 предшественник 1-480

&lt;400&gt; 132

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys | 20  | 25  | 30  |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | 35  | 40  | 45  |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | 50  | 55  | 60  |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | 85  | 90  | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | 100 | 105 | 110 |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | 115 | 120 | 125 |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | 130 | 135 | 140 |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | 165 | 170 | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | 180 | 185 | 190 |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | 195 | 200 | 205 |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | 210 | 215 | 220 |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | 245 | 250 | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | 260 | 265 | 270 |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | 275 | 280 | 285 |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | 290 | 295 | 300 |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | 305 | 310 | 315 | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | 325 | 330 | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | 340 | 345 | 350 |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | 355 | 360 | 365 |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | 370 | 375 | 380 |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | 385 | 390 | 395 | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | 405 | 410 | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | 420 | 425 | 430 |     |



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |

&lt;210&gt; 133

&lt;211&gt; 481

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; sHuPH20 предшественник 1-481

&lt;400&gt; 133

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |  |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |  |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |
| Phe |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |

&lt;210&gt; 134

&lt;211&gt; 483

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; sHuRN20 предшественник 1-483

&lt;400&gt; 134

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

```

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
      260                      265                      270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
      275                      280                      285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
      290                      295                      300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305                      310                      315                      320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
      325                      330                      335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
      340                      345                      350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
      355                      360                      365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
      370                      375                      380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385                      390                      395                      400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
      405                      410                      415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
      420                      425                      430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
      435                      440                      445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
      450                      455                      460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465                      470                      475                      480
Phe Tyr Asn

```

<210> 135

<211> 432

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> sHuRN20 зрелый 36-467

<400> 135

```

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

```

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |

&lt;210&gt; 136

&lt;211&gt; 448

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; sHuPH20 зрелый 36-483

&lt;400&gt; 136

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | Val | Gln | Leu |
| 130 |     |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | Glu | Lys | Ala |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | Leu | Leu | Arg |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |
| Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | Tyr | Asn | His |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | Val | Glu | Ile |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | Thr | Ala | Leu |
| 210 |     |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | Ala | Ala | Thr |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | Ser | Lys | Ile |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |
| Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | Arg | Ile | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | Leu | Val | Tyr |
|     | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | Val | Ile | Trp |
| 290 |     |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | Leu | Leu | Asp |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | Val | Thr | Leu |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     | 335 |
| Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | Gly | Val | Cys |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | Asn | Pro | Asp |
|     | 355 |     |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | Val | Arg | Gly |
| 370 |     |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | Phe | Tyr | Cys |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | Val | Lys | Asp |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys | Ile | Asp | Ala |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile | Phe | Tyr | Asn |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |

&lt;210&gt; 137

&lt;211&gt; 509

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; предшественник PH20 вариант P48A

&lt;400&gt; 137

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |  |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |  |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |  |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |  |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |  |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |  |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |  |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     |     | 175 |  |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |  |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |  |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |  |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |     |  |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |  |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     | 335 |     |  |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     | 350 |     |     |     |  |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |  |
|     | 355 |     |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |  |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val |  |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |  |
| Ser | Ile | Leu | Phe | Leu | Ile | Ile | Ser | Ser | Val | Ala | Ser | Leu |     |     |     |  |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     |     |     |     |  |

&lt;210&gt; 138

&lt;211&gt; 509

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; предшественик PH20 вариант L499W

&lt;400&gt; 138

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     |     | 445 |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
| 450 |     |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Val |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Ser | Ile | Trp | Phe | Leu | Ile | Ile | Ser | Ser | Val | Ala | Ser | Leu |     |     |     |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     |     |     |     |

&lt;210&gt; 139

&lt;211&gt; 1449

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; последовательность гена 2 мРНК

&lt;400&gt; 139

|            |            |            |             |             |            |      |
|------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|------|
| atgggagtg  | taaaattcaa | gcacatcttt | ttcagaagct  | ttgttaaatac | aagtggagta | 60   |
| tcccagatag | ttttcacctt | ccttctgatt | ccatggttgct | tgactctgaa  | tttcagagca | 120  |
| cctcctgtta | ttccaaatgt | gcctttcctc | tgggcctgga  | atgccccaaag | tgaattttgt | 180  |
| cttggaataa | ttgatgagcc | actagatatg | agcctcttct  | ctttcatagg  | aagccccga  | 240  |
| ataaacgcca | ccgggcaagg | tggtacaata | ttttatgttg  | atagacttgg  | ctactatcct | 300  |
| tacatagatt | caatcacagg | agtaactgtg | aatggaggaa  | tccccagaa   | gatttcctta | 360  |
| caagaccatc | tggacaaagc | taagaaagac | attacatctt  | atatgccagt  | agacaatttg | 420  |
| ggaatggctg | ttattgactg | ggaagaatgg | agaccactt   | gggcaagaaa  | ctggaaacct | 480  |
| aaagatgttt | acaagaatag | gtctattgaa | ttggttcagc  | aacaaaatgt  | acaacttagt | 540  |
| ctcacagagg | ccactgagaa | agcaaaaaca | gaatttgaaa  | aggcagggaa  | ggatttcctg | 600  |
| gtagagacta | taaaattggg | aaaattactt | cggccaaatc  | acttgtgggg  | ttattatctt | 660  |
| tttcgggatt | gttacaacca | tcactataag | aaaccgggtt  | acaatggaag  | ttgcttcaat | 720  |
| gtagaaataa | aaagaaatga | tgatctcagc | tgggtgtgga  | atgaaagcac  | tgctctttac | 780  |
| ccatccatct | atttgaacac | tcagcagctc | cctgtagctg  | ctacactcta  | tgtgcgcaat | 840  |
| cgagttcggg | aagccatcag | agtttccaaa | atacctgatg  | caaaaagtcc  | acttccggtt | 900  |
| tttgcatata | cccgcatagt | ttttactgat | caagtcttga  | aattcctttc  | tcaagatgaa | 960  |
| cttgtgtata | catttggcga | aactggtgct | ctgggtgctt  | ctggaattgt  | aatatgggga | 1020 |
| accctcagta | taatgcgaag | tatgaaatct | tgcttgctcc  | tagacaatta  | catggagact | 1080 |
| atactgaatc | cttacataat | caacgtcaca | ctagcagcca  | aaatgtgtag  | tcaagtgtct | 1140 |
| tgccaggagc | aaggagtgtg | tataaggaaa | aactggaatt  | caagtgacta  | tcttcacctc | 1200 |
| aaccagata  | atcttgctat | tcaacttgag | aaagggtgga  | agttcacagt  | acgtggaaaa | 1260 |
| ccgacacttg | aagacctgga | gcaattttct | gaaaaatttt  | attgcagctg  | ttatagcacc | 1320 |
| ttgagttgta | aggagaaagc | tgatgtaaaa | gacactgatg  | ctgttgatgt  | gtgtattgct | 1380 |
| gatggtgtct | gtatagatgc | ttttctaaaa | cctcccatgg  | agacagaaga  | acctcaaatt | 1440 |
| ttctactga  |            |            |             |             |            | 1449 |

&lt;210&gt; 140

&lt;211&gt; 6630

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; HZ24 вектор

&lt;400&gt; 140

|            |            |            |            |            |             |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-----|
| tcaatattgg | ccattagcca | tattattcat | tggttatata | gcataaatca | atattggcta  | 60  |
| ttggccattg | catagcttgt | atctatatca | taatatgtac | atttatattg | gctcatgtcc  | 120 |
| aatatgaccg | ccatgttggc | attgattatt | gactagttat | taatagtaat | caattacggg  | 180 |
| gtcattagtt | catagcccat | atatggagtt | ccgcgttaca | taacttacgg | taaatggccc  | 240 |
| gcctggctga | ccgccaacg  | acccccgcc  | attgacgtca | ataatgacgt | atgttcccat  | 300 |
| agtaacgcca | atagggactt | tccattgacg | tcaatgggtg | gagtatttac | ggtaaaactgc | 360 |
| ccacttggca | gtacatcaag | tgtatcatat | gccaagtccg | ccccctattg | acgtcaatga  | 420 |



|             |             |             |             |             |             |      |
|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| cggtaaattg  | ccgcctggc   | attatgccca  | gtacatgacc  | ttacgggact  | ttcctacttg  | 480  |
| gcagtacatc  | tacgtattag  | tcacgcgtat  | taccatgggtg | atgcgggtttt | ggcagtacac  | 540  |
| caatgggctg  | ggatagcggg  | ttgactcacg  | gggattttcca | agtctccacc  | ccattgacgt  | 600  |
| caatgggagt  | ttgttttggc  | accaaattca  | acgggacttt  | ccaaaatgtc  | gtaataaccc  | 660  |
| cgccccgttg  | acgcaaattg  | gcggttaggcg | tgtacgggtg  | gaggtctata  | taagcagagc  | 720  |
| tcgttttagtg | aaccgtcaga  | tcactagaag  | ctttatttgcg | gtagttttatc | acagttaaat  | 780  |
| tgctaacgca  | gtcagtgcct  | ctgacacaac  | agtctcgaac  | ttaagctgca  | gaagttgggtc | 840  |
| gtgaggcact  | gggcaggtaa  | gtatcaagg   | tacaagacag  | gtttaaggag  | accaatagaa  | 900  |
| actgggcttg  | tcgagacaga  | gaagactcct  | gcgttttctga | taggcaccta  | ttgggtcttac | 960  |
| tgacatccac  | tttgcctttc  | tctccacagg  | tgtccactcc  | cagttcaatt  | acagctctta  | 1020 |
| aggctagagt  | acttaatacg  | actcactata  | ggctagcatg  | ggagtgcata  | aattcaagca  | 1080 |
| catctttttc  | agaagctttg  | ttaaatcaag  | tggagtatcc  | cagatagttt  | tcaccttcct  | 1140 |
| tctgattcca  | tgttgcttga  | ctctgaattt  | cagagcacct  | cctgtttattc | caaatgtgcc  | 1200 |
| tttctctctg  | gcctggaatg  | ccccaaagtga | attttctctt  | ggaaaatttg  | atgagccact  | 1260 |
| agatatgagc  | ctcttctctt  | tcataaggaag | cccccgaaata | aacgccaccg  | ggcaagggtgt | 1320 |
| tacaatatatt | tatgttgata  | gacttggcta  | ctatccttac  | atagattcaa  | tcacaggagt  | 1380 |
| aactgtgaat  | ggaggaatcc  | cccagaagat  | ttcctttacaa | gaccatctgg  | acaaagctaa  | 1440 |
| gaaagacatt  | acattttata  | tgccagtaga  | caatttggga  | atggctgtta  | ttgactggga  | 1500 |
| agaatggaga  | cccacttggg  | caagaaactg  | gaaacctaaa  | gatgtttaca  | agaatagggtc | 1560 |
| tattgaattg  | gttcagcaac  | aaaatgtaca  | acttagtctc  | acagaggcca  | ctgagaaaagc | 1620 |
| aaaacaagaa  | tttgaaaagg  | cagggaagga  | tttctctggt  | gagactataa  | aattgggaaa  | 1680 |
| attacttcgg  | ccaaatcact  | tgtgggggtta | ttatcttttt  | ccggattgtt  | acaaccatca  | 1740 |
| ctataagaaa  | cccggttaca  | atggaagtgt  | cttcaatgta  | gaaataaaaa  | gaaatgatga  | 1800 |
| tctcagctgg  | ttgtggaatg  | aaagcactgc  | tctttaccca  | tccattttatt | tgaacactca  | 1860 |
| gcagtctcct  | gtagctgcta  | cactctatgt  | gcgcaatcga  | gttcgggaag  | ccatcagagt  | 1920 |
| ttccaaaata  | cctgatgcaa  | aaagtccact  | tccggttttt  | gcataataccc | gcatagtttt  | 1980 |
| tactgatcaa  | gttttgaaat  | tcctttctca  | agatgaactt  | gtgtatacat  | ttggcgaaac  | 2040 |
| tgttgctctg  | ggtgcttctg  | gaattgtaat  | atggggaacc  | ctcagtataa  | tgcgaaagtat | 2100 |
| gaaatcttgc  | ttgtccttag  | acaattacat  | ggagactata  | ctgaatcctt  | acataatcaa  | 2160 |
| cgtcacacta  | gcagccaaaa  | tgtgtagcca  | agtgccttgc  | caggagcaag  | gagtgtgtat  | 2220 |
| aaggaaaaac  | tggaattcaa  | gtgactatct  | tcacctcaac  | ccagataatt  | ttgctattca  | 2280 |
| acttgagaaa  | ggtggaaaagt | tcacagtacg  | tggaaaaccg  | acacttgaag  | acctggagca  | 2340 |
| attttctgaa  | aaattttatt  | gcagctgtta  | tagcaccttg  | agttgtaagg  | agaaagctga  | 2400 |
| tgtaaaagac  | actgatgctg  | ttgatgtgtg  | tattgctgat  | ggtgtctgta  | tagatgcttt  | 2460 |
| tctaaaacct  | cccatggaga  | cagaagaacc  | tcaaattttc  | tactgaggat  | ccatagctaa  | 2520 |
| cgccccctct  | cctccccccc  | ccctaacgtt  | actggccgaa  | gccgcttgga  | ataaggccgg  | 2580 |
| tgtgcgtttg  | tctatatgtt  | attttccacc  | atattgccgt  | cttttggcaa  | tgtgagggcc  | 2640 |
| cggaaacctg  | gccctgtcct  | cttgacgagc  | attcctaggg  | gtctttcccc  | tctcgccaaa  | 2700 |
| ggaatgcaag  | gtctgttgaa  | tgtcgtgaag  | gaagcagttc  | ctctggaagc  | ttcttgaaga  | 2760 |
| caaacaacgt  | ctgtagcgac  | cctttgcagg  | cagcggaacc  | ccccacctgg  | cgacaggtgc  | 2820 |
| ctctgcggcc  | aaaagccacg  | tgtataagat  | acacctgcaa  | aggcggcaca  | acccagtgcc  | 2880 |
| cacgttgtga  | gttggaatgt  | tgtggaaaga  | gtcaaatggc  | tctcctcaag  | cgtattcaac  | 2940 |
| aaggggctga  | aggatgcccc  | gaaggtaccc  | cattgtatgg  | gatctgatct  | ggggcctcgg  | 3000 |
| tgcacatgct  | ttacatgtgt  | ttagtgcagg  | ttaaaaaac   | gtctaggccc  | cccgaaccac  | 3060 |
| ggggacgtgg  | ttttcctttg  | aaaaacacga  | tgataagctt  | gccacaaccc  | acagcggccg  | 3120 |
| ctgccatcat  | ggttcgacca  | ttgaactgca  | tcgtcgccgt  | gtcccaaaat  | atgggggattg | 3180 |
| gcaagaacgg  | agacctaccc  | tggcctccgc  | tcaggaacga  | gttcaagtac  | ttccaaagaa  | 3240 |
| tgaccacaac  | ctcttcagtg  | gaaggtaaac  | agaatctggt  | gattatgggt  | aggaaaacct  | 3300 |
| ggttctccat  | tcctgagaag  | aatcgacctt  | taaaggacag  | aattaatata  | gttctcagta  | 3360 |
| gagaactcaa  | agaaccacca  | cgaggagctc  | attttcttgc  | caaaagtttg  | gatgatgcct  | 3420 |
| taagacttat  | tgaacaaccg  | gaattggcaa  | gtaaagtaga  | catggtttgg  | atagtcggag  | 3480 |
| gcagttctgt  | ttaccaggaa  | gccatgaatc  | aaccaggcca  | cctcagactc  | tttgtgacaa  | 3540 |
| ggatcatgca  | ggaatttgaa  | agtgcacagt  | ttttcccgaga | aattgatttg  | gggaaatata  | 3600 |
| aacttctccc  | agaataccca  | ggcgctcctc  | ctgagggtcca | ggaggaaaaa  | ggcatcaagt  | 3660 |
| ataagtttga  | agtctacgag  | aagaaagact  | aaacgcgtgg  | tacctctaga  | gtcgacccgg  | 3720 |
| gcggccgctt  | cgagcagaca  | tgataagata  | cattgatgag  | tttgacaaa   | ccacaactag  | 3780 |
| aatgcagtga  | aaaaaatgct  | ttatttgtga  | aatttgtgat  | gctattgctt  | tatttgtaac  | 3840 |
| cattataagc  | tgcaataaac  | aagttaacaa  | caacaattgc  | attcatttta  | tgtttcaggt  | 3900 |
| tcagggggag  | atgtggggag  | ttttttaaag  | caagtaaaac  | ctctacaaat  | gtggtaaaat  | 3960 |
| cgataaggat  | ccgggctggc  | gtaatagcga  | agaggcccg   | accgatcgcc  | cttcccaaca  | 4020 |
| gttgcgcgag  | ctgaatggcg  | aatggacgcg  | ccctgtagcg  | gcgcattaag  | cgcggcgggg  | 4080 |

```

gtgggtgggtta cgcgccagcgt gaccgctaca cttgccagcgc ccctagcgcgc cgctcctttc 4140
gcttttcttcc cttccttttct cgccacggtc gccggctttc cccgtcaagc tctaaatcgg 4200
gggctccctt taggggttccg atttagtgct ttacggcacc tcgaccccaa aaaacttgat 4260
taggggtgatg gttcacgtag tgggccatcg ccctgataga cggttttttcg ccctttgacg 4320
ttggagtgcca cgttcttttaa tagtggaactc ttgttccaaa ctggaacaac actcaaccct 4380
atctcgggtct attccttttga tttataaggg attttgccga tttcggccta ttgggttaaaa 4440
aatgagctga ttttaacaaaa atttaacgcg aatttttaaca aaatattaac gcttacaaatt 4500
tcctgatgcg gtatttttctc cttacgcac cttgcggtat ttcacaccgc atatgggtgca 4560
ctctcagtag aatctgctct gatgccgcac agttaagcca gccccgacac ccgccaacac 4620
ccgctgacgc gccctgacgg gcttgctcgc tcccggcatc cgcttacaga caagctgtga 4680
ccgtctccgg gagctgcatg tgtcagaggt tttcacgcgc atcacgaaa cgcgcgagac 4740
gaaagggcct cgtgatacgc ctattttttat aggttaaatgt catgataata atgggtttctt 4800
agacgtcagg tggcactttt cgggggaaatg tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct 4860
aaatacatct aaatatgtat ccgctcatga gacaataacc ctgataaatg cttcaataat 4920
attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac atttcctgtg cgcccttatt cccttttttg 4980
cggcattttg ctttctgtt tttgctcacc cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg 5040
aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc 5100
ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc caatgatgag cactttttaa gttctgctat 5160
gtggcgcggt attatcccg attgacgcgc ggcaagagca actcggctgc cgcatacact 5220
attctcagaa tgacttggtt gagtactcac cagtacaga aaagcatctt acggatggca 5280
tgacagtaag agaattatgc agtgctgcc taaccatgag tgataacact gcggccaact 5340
tacttctgac aacgatcggg ggaccgaagg agctaaccgc ttttttgcac aacatggggg 5400
atcatgtaac tcgccttgat cgttggggaa cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg 5460
agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg caacaacggt gcgcaaacta ttaactggcg 5520
aactacttac tctagcttcc cggcaacaat taatagactg gatggaggcg gataaagttg 5580
caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg ctggctggtt tattgctgat aaatctggag 5640
ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg cagcactggg gccagatggg aagccctccc 5700
gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc aggcaactat ggatgaacga aatagacaga 5760
tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc attggtaact gtcagaccaa gtttactcat 5820
atatacttta gattgattta aaacttcatt ttttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc 5880
tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt aacgtgagtt ttcgttcac tgagcgtcag 5940
accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct 6000
gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag ccggtgggttg tttgccggat caagagctac 6060
caactctttt tccgaaggta actggcttca gcagagcgca gataccaaat actgttcttc 6120
tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca agaactctgt agcaccgcct acatacctcg 6180
ctctgctaata cctgttaccg gtggctgctg ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt 6240
tggactcaag acgatagtta ccgataagg cgacgcggtc gggctgaacg ggggggttcgt 6300
gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct acaccgaact gagataccta cagcgtgagc 6360
tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca 6420
gggtcggaac aggagagcgc acgaggagcgt tccaggggg aaacgcctgg tatctttata 6480
gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg 6540
ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg cggccttttt acggttcctg gccttttgct 6600
ggccttttgc tcacatggct cgacagatct 6630

```

<210> 141

<211> 186

<212> Белок

<213> Mus musculus

<220>

<223> дигидрофолатредуктаза

<400> 141

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Arg | Pro | Leu | Lys | Asp | Arg | Ile | Asn | Ile | Val | Leu | Ser | Arg | Glu | Leu | Lys |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Glu | Pro | Pro | Arg | Gly | Ala | His | Phe | Leu | Ala | Lys | Ser | Leu | Asp | Asp | Ala |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Leu | Arg | Leu | Ile | Glu | Gln | Pro | Glu | Leu | Ala | Ser | Lys | Val | Asp | Met | Val |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Trp | Ile | Val | Gly | Gly | Ser | Ser | Val | Tyr | Gln | Glu | Ala | Met | Asn | Gln | Pro |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Gly | His | Leu | Arg | Leu | Phe | Val | Thr | Arg | Ile | Met | Gln | Glu | Phe | Glu | Ser |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Asp | Thr | Phe | Phe | Pro | Glu | Ile | Asp | Leu | Gly | Lys | Tyr | Lys | Leu | Leu | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Glu | Tyr | Pro | Gly | Val | Leu | Ser | Glu | Val | Gln | Glu | Glu | Lys | Gly | Ile | Lys |
|     |     |     | 165 |     |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Tyr | Lys | Phe | Glu | Val | Tyr | Glu | Lys | Lys | Asp |     |     |     |     |     |     |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     |     |     |     |

<210> 142  
 <211> 6  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Метка гексаHis

<400> 142  
 His His His His His His  
 1 5

<210> 143  
 <211> 8  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Flag-метка

<400> 143  
 Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys  
 1 5

<210> 144  
 <211> 22  
 <212> Белок  
 <213> Homo sapiens

<220>  
 <223> сигнальный пептид человеческого IgK

<400> 144  
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp  
 1 5 10 15  
 Leu Pro Gly Ala Arg Gly  
 20

<210> 145  
 <211> 21

<212> Белок  
 <213> Mus musculus

<220>  
 <223> сигнальный пептид IgK мыши

<400> 145  
 Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro  
           1                  5                  10                  15  
 Gly Ser Thr Gly Asp  
                           20

<210> 146  
 <211> 1500  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> SPAM1-SSVA кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции NheI  
 и BamHI

<400> 146  
 gctagcatgg acatgagggt accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60  
 ggggcaagg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120  
 gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180  
 ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240  
 tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300  
 ggaggcattc ctcaaaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360  
 acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420  
 cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480  
 gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540  
 ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600  
 cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660  
 cccggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720  
 ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780  
 gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccacaggggt gtccaagatc 840  
 cccgatgcca aatctcccct cccagtgttt gcctacacca ggatcgtggt taccgaccag 900  
 gtgttgaaat tcctgagcca ggacgagctc gtgtataact ttggcgagac agttgctctg 960  
 ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020  
 ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080  
 gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140  
 tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200  
 ggtggtaaat tcaactgtcc agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260  
 aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320  
 actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380  
 ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgct 1440  
 accatgttca tcgtatctat acttttctctg attatatcaa gcgtggcatg ataaggatcc 1500

<210> 147  
 <211> 1494  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> SPAM1-IISS кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции NheI  
 и BamHI

<400> 147  
 gctagcatgg acatgagggt accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60

```

ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tccgaataga gtgagggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tcttgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440
accatgttca tcgtatctat acttttctctg attatatcaa gctgataagg atcc 1494

```

<210> 148

<211> 1488

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-FLII кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции NheI и BamHI

<400> 148

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgtttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tccgaataga gtgagggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tcttgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440
accatgttca tcgtatctat acttttctctg attatatgat aaggatcc 1488

```

<210> 149  
 <211> 1482  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-ILFL кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
 NheI и BamHI

<400> 149

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctggtggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440
accatgttca tcgtatctat acttttctctg tgataaggat cc 1482

```

<210> 150

<211> 1476

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-VSIL кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции NheI  
 и BamHI

<400> 150

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctggtggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900

```

```

gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc acaactcgagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440
accatgttca tcgtatctat actttgataa ggatcc 1476

```

<210> 151

<211> 1470

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-FIVS кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 151

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcaactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccacagggg gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctcccct cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc acaactcgagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440
accatgttca tcgtatcttg ataaggatcc 1476

```

<210> 152

<211> 1464

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-TMFI кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 152

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240

```

|             |            |            |            |            |            |      |
|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|------|
| tacgtggatc  | gtctgggcta | ttacccttac | atcgacagca | ttactggggt | gaccgtgaac | 300  |
| ggaggcattc  | ctcagaaaat | atcactgcag | gaccacctgg | acaaagctaa | gaaggatatt | 360  |
| acattctaca  | tgccagtgga | caatctcgga | atggctgtga | ttgactggga | ggagtggaga | 420  |
| cctacttggg  | cccgaattg  | gaagcccaag | gatgtgtata | agaaccgatc | cattgagctg | 480  |
| gtgcagcagc  | agaacgtgca | gctgtccctt | acagaagcca | ccgaaaaagc | taagcaggaa | 540  |
| ttcgagaaaag | ctgggaagga | tttcctgggt | gagacaataa | aacttgggaa | actgcttaga | 600  |
| cctaaccacc  | tctggggcta | ttatttggtc | cccgattgct | acaatcacca | ctataagaag | 660  |
| cccggctaca  | acggatcttg | tttcaacgtc | gaaattaaaa | gaaacgatga | cctctcttgg | 720  |
| ttgtggaatg  | agtctactgc | actctacccc | tctatatatc | tcaacacaca | gcagtcccca | 780  |
| gtagccgcta  | ccctctacgt | tccgaataga | gtgagggaag | ccatcagggt | gtccaagatc | 840  |
| cccgatgcca  | aatctccctt | cccagtgttt | gcctacacca | ggatcgtgtt | taccgaccag | 900  |
| gtgttggaatg | tcctgagcca | ggacgagctc | gtgtatactt | ttggcgagac | agttgctctg | 960  |
| ggagcctctg  | ggatcgtgat | ctggggcact | ctgagtatta | tgcgatcaat | gaagtcctgc | 1020 |
| ctgctgttgg  | ataactacat | ggagacaatc | ctgaacccat | atatcattaa | cgtgactttg | 1080 |
| gccgctaaga  | tgtgttcaca | ggtgctgtgt | caagagcagg | gagtatgcat | taggaagaac | 1140 |
| tggaactcaa  | gcgattatct | ccatctgaac | ccagataatt | ttgcaatcca | gctggaaaag | 1200 |
| ggtggtaaat  | tactgtccg  | agggaagccc | acactcgagg | atctcgaaca | gtttagttaa | 1260 |
| aagttctact  | gtagctgcta | tagcactctg | agttgtaagg | aaaaagccga | tgtgaaagac | 1320 |
| actgatgccg  | ttgacgtttg | catcgccgat | ggggtgtgta | ttgacgcctt | tctcaagcca | 1380 |
| ccaatggaga  | ctgaggagcc | ccagatcttt | tacaacgcct | ccccctccac | cttgagtgtc | 1440 |
| accatgttca  | tctgataagg | atcc       |            |            |            | 1464 |

&lt;210&gt; 153

&lt;211&gt; 1458

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> SPAM1-SATM кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 153

|             |            |            |            |            |            |      |
|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|------|
| gctagcatgg  | acatgagggg | accagcccag | ctgtttgggg | ttcttctgct | ttggctccct | 60   |
| ggggcaaggg  | gacttaactt | cagagctccc | cctgtaatcc | caaacgtccc | cttcctgtgg | 120  |
| gcatggaacg  | cccctagcga | attctgtttg | gggaaatttg | acgaacctct | ggacatgtct | 180  |
| ctgttttctt  | ttatcggtag | ccctcgaatc | aacgctaccg | gacagggggg | gacaatcttt | 240  |
| tacgtggatc  | gtctgggcta | ttacccttac | atcgacagca | ttactggggt | gaccgtgaac | 300  |
| ggaggcattc  | ctcagaaaat | atcactgcag | gaccacctgg | acaaagctaa | gaaggatatt | 360  |
| acattctaca  | tgccagtgga | caatctcgga | atggctgtga | ttgactggga | ggagtggaga | 420  |
| cctacttggg  | cccgaattg  | gaagcccaag | gatgtgtata | agaaccgatc | cattgagctg | 480  |
| gtgcagcagc  | agaacgtgca | gctgtccctt | acagaagcca | ccgaaaaagc | taagcaggaa | 540  |
| ttcgagaaaag | ctgggaagga | tttcctgggt | gagacaataa | aacttgggaa | actgcttaga | 600  |
| cctaaccacc  | tctggggcta | ttatttggtc | cccgattgct | acaatcacca | ctataagaag | 660  |
| cccggctaca  | acggatcttg | tttcaacgtc | gaaattaaaa | gaaacgatga | cctctcttgg | 720  |
| ttgtggaatg  | agtctactgc | actctacccc | tctatatatc | tcaacacaca | gcagtcccca | 780  |
| gtagccgcta  | ccctctacgt | tccgaataga | gtgagggaag | ccatcagggt | gtccaagatc | 840  |
| cccgatgcca  | aatctccctt | cccagtgttt | gcctacacca | ggatcgtgtt | taccgaccag | 900  |
| gtgttggaatg | tcctgagcca | ggacgagctc | gtgtatactt | ttggcgagac | agttgctctg | 960  |
| ggagcctctg  | ggatcgtgat | ctggggcact | ctgagtatta | tgcgatcaat | gaagtcctgc | 1020 |
| ctgctgttgg  | ataactacat | ggagacaatc | ctgaacccat | atatcattaa | cgtgactttg | 1080 |
| gccgctaaga  | tgtgttcaca | ggtgctgtgt | caagagcagg | gagtatgcat | taggaagaac | 1140 |
| tggaactcaa  | gcgattatct | ccatctgaac | ccagataatt | ttgcaatcca | gctggaaaag | 1200 |
| ggtggtaaat  | tactgtccg  | agggaagccc | acactcgagg | atctcgaaca | gtttagttaa | 1260 |
| aagttctact  | gtagctgcta | tagcactctg | agttgtaagg | aaaaagccga | tgtgaaagac | 1320 |
| actgatgccg  | ttgacgtttg | catcgccgat | ggggtgtgta | ttgacgcctt | tctcaagcca | 1380 |
| ccaatggaga  | ctgaggagcc | ccagatcttt | tacaacgcct | ccccctccac | cttgagtgtc | 1440 |
| accatgtgat  | aaggatcc   |            |            |            |            | 1458 |

&lt;210&gt; 154

&lt;211&gt; 1452

&lt;212&gt; ДНК



<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-TLSA кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 154

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaaa atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtgga caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaaa 1200
ggtggtaaat tcactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440
tgataaggat cc                                     1452

```

<210> 155

<211> 1446

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-PSTL кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 155

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaaa atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtgga caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080

```

```

gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcactgtccg aggggaagccc aactcgcagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgtgataa 1440
ggatcc 1446

```

<210> 156

<211> 1440

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-ASPS кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 156

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcaaaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtacac acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggag ccatcagggg gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctcccct cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcactgtccg aggggaagccc aactcgcagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctcctg ataaggatcc 1440

```

<210> 157

<211> 1434

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-YNAS кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 157

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcaaaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420

```

```

cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcagaaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctgggggcta ttatttgttc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tccggaataga gtgagggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttggaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cctgataagg atcc 1434

```

<210> 158

<211> 1431

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-FYNA кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 158

```

gctagcatgg acatgagggt accagcccag ctgttgggsc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcaaaaaat atcaactgcag gaccacctgg acaaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtgga caatctcggg atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcagaaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctgggggcta ttatttgttc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tccggaataga gtgagggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttggaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct gataaggatc c 1431

```

<210> 159

<211> 1428

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-IFYN кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 159

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgttg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtgga caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tccggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttggaag tccctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaactgat aaggatcc 1428

```

&lt;210&gt; 160

&lt;211&gt; 1425

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> SPAM1-QIFY кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 160

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgttg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtgga caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tccggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttggaag tccctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tactgataag gatcc 1425

```

<210> 161  
 <211> 1422  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-PQIF кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
 NheI и BamHI

<400> 161

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tgataaggat cc 1422

```

<210> 162  
 <211> 1419  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-EPQI кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
 NheI и BamHI

<400> 162

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960

```

```

ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaaagccc acaactcgagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatctga taaggatcc 1419

```

<210> 163

<211> 1416

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-ЕЕРQ кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 163

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcaaaaaat atcaactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta cctctacgt tcggaataga gtgaggggag ccatcagggg gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctcccct ccagtggtt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaaagccc acaactcgagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagtgataa ggatcc 1416

```

<210> 164

<211> 1413

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-ТЕЕР кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 164

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcaaaaaat atcaactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420

```

```

cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcagaaaag ctgggaagga ttctctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctgggggcta ttattttgttc cccgatttgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tccggaataga gtgagggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttggaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ctgataagga tcc 1413

```

<210> 165

<211> 1410

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-ETEE кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 165

```

gctagcatgg acatgagggt accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcaaaaaat atcaactgcag gaccacctgg acaaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtgga caatctcggg atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcagaaaag ctgggaagga ttctctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctgggggcta ttattttgttc cccgatttgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tccggaataga gtgagggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttggaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagtg ataaggatcc 1410

```

<210> 166

<211> 1407

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-METE кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 166

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtgga caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
ccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgagtgata aggatcc 1407

```

&lt;210&gt; 167

&lt;211&gt; 1404

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> SPAM1-PMET кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 167

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtgga caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
ccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga cttgataagg atcc 1404

```



<210> 168  
 <211> 1401  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-PPME кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
 NheI и BamHI

<400> 168

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctggtggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggagt gataaggatc c

```

<210> 169  
 <211> 1398  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-KPPM кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
 NheI и BamHI

<400> 169

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctggtggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960

```

```

ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaaagccc acaactcgagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatgtgat aaggatcc                                     1398

```

<210> 170

<211> 1395

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-LKPP кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 170

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcaaaaaat atcaactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta cctctacgt tcggaataga gtgaggggag ccatcagggg gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctcccct cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaaagccc acaactcgagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccatgataag gatcc                                     1395

```

<210> 171

<211> 1392

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-FLKP кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 171

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcaaaaaat atcaactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420

```

```

cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcagaaaaag ctgggaagga ttctctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttgttc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tccggaataga gtgagggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttggaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
tgataaggat cc                                     1392

```

<210> 172

<211> 1389

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-AFLK кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 172

```

gctagcatgg acatgagggt accagcccag ctgttgggsc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcaaaaaat atcaactgcag gaccacctgg acaaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcggg atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcagaaaaag ctgggaagga ttctctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttgttc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tccggaataga gtgagggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttggaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagtga 1380
taaggatcc                                     1389

```

<210> 173

<211> 1386

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-DAFL кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 173

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtgga caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctctgataa 1380
ggatcc                                     1386

```

&lt;210&gt; 174

&lt;211&gt; 1383

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> SPAM1-IDAF кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 174

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtgga caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt ttgataagga 1380
tcc                                     1383

```

<210> 175  
 <211> 1380  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-CIDA кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
 NheI и BamHI

<400> 175

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccactgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcactgtccg agggaagccc aactcagag atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctg ataaggatcc 1380

```

<210> 176  
 <211> 1377  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-VCID кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
 NheI и BamHI

<400> 176

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960

```

```

ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaaagccc acaactcgagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgactgata aggatcc 1377

```

<210> 177

<211> 1374

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-GVCI кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 177

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaaa atcaactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtacac acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggag ccacagggg gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctcccct cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaaagccc acaactcgagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgataagg atcc 1374

```

<210> 178

<211> 1371

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-DGVC кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 178

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaaa atcaactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540

```

```

ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaa ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctcccct cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgtt gataaggatc c 1371

```

<210> 179

<211> 1365

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-IADG кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 179

```

gctagcatgg acatgagggt accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcaaaaaat atcaactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaa ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctcccct cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgataag gatcc 1365

```

<210> 180

<211> 1359

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-VCIA кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

<400> 180

```

gctagcatgg acatgagggt accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctctctgtgg 120

```

|             |            |            |            |            |             |      |
|-------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------|
| gcatggaacg  | cccctagcga | attctgtttg | gggaaatttg | acgaacctct | ggacatgtct  | 180  |
| ctgtttttctt | ttatcggtag | ccctcgaatc | aacgctaccg | gacagggggg | gacaatcttt  | 240  |
| tacgtggatc  | gtctgggcta | ttacccttac | atcgacagca | ttactggggg | gaccgtgaac  | 300  |
| ggaggcattc  | ctcagaaaat | atcactgcag | gaccacctgg | acaaagctaa | gaaggatatt  | 360  |
| acattctaca  | tgccagtggg | caatctcgga | atggctgtga | ttgactggga | ggagtggaga  | 420  |
| cctacttggg  | cccgaattg  | gaagcccaag | gatgtgtata | agaaccgatc | cattgagctg  | 480  |
| gtgcagcagc  | agaacgtgca | gctgtccctt | acagaagcca | ccgaaaaagc | taagcaggaa  | 540  |
| ttcgagaaag  | ctgggaagga | tttcctgggt | gagacaataa | aacttgggaa | actgcttaga  | 600  |
| cctaaccacc  | tctggggcta | ttatttggtc | cccgattgct | acaatcacca | ctataagaag  | 660  |
| cccggctaca  | acggatcttg | tttcaacgtc | gaaattaaaa | gaaacgatga | cctctcttgg  | 720  |
| ttgtggaatg  | agtctactgc | actctacccc | tctatatatc | tcaacacaca | gcagtcccca  | 780  |
| gtagccgcta  | ccctctacgt | tccgaataga | gtgagggaag | ccatcagggt | gtccaagatc  | 840  |
| cccgatgcca  | aatctccctt | cccagtgttt | gcctacacca | ggatcgtggt | taccgaccag  | 900  |
| gtgttggaagt | tcctgagcca | ggacgagctc | gtgtatactt | ttggcgagac | agttgctctg  | 960  |
| ggagcctctg  | ggatcgtgat | ctggggcact | ctgagtatta | tgcgatcaat | gaagtcctgc  | 1020 |
| ctgctgttgg  | ataactacat | ggagacaatc | ctgaacccat | atatcattaa | cgtgactttg  | 1080 |
| gccgctaaga  | tgtgttcaca | ggtgctgtgt | caagagcagg | gagtatgcat | taggaagaac  | 1140 |
| tggaactcaa  | gcgattatct | ccatctgaac | ccagataatt | ttgcaatcca | gctggaaaag  | 1200 |
| ggtggtaaat  | tcactgtccg | agggaagccc | acactcgagg | atctcgaaca | gttttagtgaa | 1260 |
| aagttctact  | gtagctgcta | tagcactctg | agttgtaagg | aaaaagccga | tgtgaaagac  | 1320 |
| actgatgccg  | ttgacgtttg | catcgcctga | taaggatcc  |            |             | 1359 |

&lt;210&gt; 181

&lt;211&gt; 1353

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> SPAM1-VDVC кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 181

|             |            |            |            |            |             |      |
|-------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------|
| gctagcatgg  | acatgagggg | accagcccag | ctgtttgggg | ttcttctgct | ttggctccct  | 60   |
| ggggcaaggg  | gacttaactt | cagagctccc | cctgtaatcc | caaacgtccc | cttcctgtgg  | 120  |
| gcatggaacg  | cccctagcga | attctgtttg | gggaaatttg | acgaacctct | ggacatgtct  | 180  |
| ctgtttttctt | ttatcggtag | ccctcgaatc | aacgctaccg | gacagggggg | gacaatcttt  | 240  |
| tacgtggatc  | gtctgggcta | ttacccttac | atcgacagca | ttactggggg | gaccgtgaac  | 300  |
| ggaggcattc  | ctcagaaaat | atcactgcag | gaccacctgg | acaaagctaa | gaaggatatt  | 360  |
| acattctaca  | tgccagtggg | caatctcgga | atggctgtga | ttgactggga | ggagtggaga  | 420  |
| cctacttggg  | cccgaattg  | gaagcccaag | gatgtgtata | agaaccgatc | cattgagctg  | 480  |
| gtgcagcagc  | agaacgtgca | gctgtccctt | acagaagcca | ccgaaaaagc | taagcaggaa  | 540  |
| ttcgagaaag  | ctgggaagga | tttcctgggt | gagacaataa | aacttgggaa | actgcttaga  | 600  |
| cctaaccacc  | tctggggcta | ttatttggtc | cccgattgct | acaatcacca | ctataagaag  | 660  |
| cccggctaca  | acggatcttg | tttcaacgtc | gaaattaaaa | gaaacgatga | cctctcttgg  | 720  |
| ttgtggaatg  | agtctactgc | actctacccc | tctatatatc | tcaacacaca | gcagtcccca  | 780  |
| gtagccgcta  | ccctctacgt | tccgaataga | gtgagggaag | ccatcagggt | gtccaagatc  | 840  |
| cccgatgcca  | aatctccctt | cccagtgttt | gcctacacca | ggatcgtggt | taccgaccag  | 900  |
| gtgttggaagt | tcctgagcca | ggacgagctc | gtgtatactt | ttggcgagac | agttgctctg  | 960  |
| ggagcctctg  | ggatcgtgat | ctggggcact | ctgagtatta | tgcgatcaat | gaagtcctgc  | 1020 |
| ctgctgttgg  | ataactacat | ggagacaatc | ctgaacccat | atatcattaa | cgtgactttg  | 1080 |
| gccgctaaga  | tgtgttcaca | ggtgctgtgt | caagagcagg | gagtatgcat | taggaagaac  | 1140 |
| tggaactcaa  | gcgattatct | ccatctgaac | ccagataatt | ttgcaatcca | gctggaaaag  | 1200 |
| ggtggtaaat  | tcactgtccg | agggaagccc | acactcgagg | atctcgaaca | gttttagtgaa | 1260 |
| aagttctact  | gtagctgcta | tagcactctg | agttgtaagg | aaaaagccga | tgtgaaagac  | 1320 |
| actgatgccg  | ttgacgtttg | ctgataagga | tcc        |            |             | 1353 |

&lt;210&gt; 182

&lt;211&gt; 1347

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность



&lt;220&gt;

<223> SPAM1-DAVD кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 182

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctccctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaaa atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
ccgatgccca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tccctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgactgata aggatcc 1347

```

&lt;210&gt; 183

&lt;211&gt; 1341

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> SPAM1-DTDA кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 183

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc ctccctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaaa atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
ccgatgccca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tccctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320

```

actgatgcct gataaggatc c

1341

&lt;210&gt; 184

&lt;211&gt; 1335

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> SPAM1-VKDT кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 184

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctggtggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcagaaaag ctgggaagga tttcctggtt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
acttgataag gatcc 1335

```

&lt;210&gt; 185

&lt;211&gt; 1329

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

<223> SPAM1-ADVК кодон-оптимизированная ДНК с сайтами рестрикции  
NheI и BamHI

&lt;400&gt; 185

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctggtggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcagaaaag ctgggaagga tttcctggtt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900

```

```

gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgtttg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcactgtccg agggaaagccc aactcgcagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaatga 1320
taaggatcc 1329

```

<210> 186

<211> 35

<212> Белок

<213> Homo sapiens

<220>

<223> сигнальный пептид PH20

<400> 186

```

Met Gly Val Leu Lys Phe Lys His Ile Phe Phe Arg Ser Phe Val Lys
 1          5          10          15
Ser Ser Gly Val Ser Gln Ile Val Phe Thr Phe Leu Leu Ile Pro Cys
          20          25          30
Cys Leu Thr
          35

```

<210> 187

<211> 496

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> PH20sHis

<400> 187

```

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

```

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     | 435 |     |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | His | His | His | His | His | His |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |

&lt;210&gt; 188

&lt;211&gt; 496

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PH20sHis-N368A (mut1)

&lt;400&gt; 188

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |  |  |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |  |  |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |  |  |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |  |  |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |  |  |
|     | 145 |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |  |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |  |  |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |  |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |  |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |  |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |  |  |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |  |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |  |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |  |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |  |  |
|     | 225 |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |  |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |  |  |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |     |  |  |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |  |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |  |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |  |  |
|     | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |  |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |  |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |  |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |  |  |
|     | 305 |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |  |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |  |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     | 335 |     |  |  |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |  |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     | 350 |     |     |     |  |  |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Ala |  |  |
|     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |     |  |  |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |  |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |  |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |  |  |
|     | 385 |     |     |     | 390 |     |     |     | 395 |     |     |     |     |     | 400 |  |  |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |  |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |  |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |  |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |  |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |  |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |  |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |  |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |  |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |  |  |
|     | 465 |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |  |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | His | His | His | His | His | His |  |  |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |  |  |

&lt;210&gt; 189

&lt;211&gt; 496

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PH20sHis-N393A (mut2)

&lt;400&gt; 189

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |  |  |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |  |  |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Ala | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | His | His | His | His | His | His |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |

<210> 190  
 <211> 496  
 <212> Белок  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> PH20sHis-N368A/N393A (mut3)

<400> 190

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys | 20  | 25  | 30  |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | 35  | 40  | 45  |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | 50  | 55  | 60  |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | 85  | 90  | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | 100 | 105 | 110 |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | 115 | 120 | 125 |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | 130 | 135 | 140 |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | 165 | 170 | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | 180 | 185 | 190 |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | 195 | 200 | 205 |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | 210 | 215 | 220 |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | 245 | 250 | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | 260 | 265 | 270 |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | 275 | 280 | 285 |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | 290 | 295 | 300 |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | 305 | 310 | 315 | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | 325 | 330 | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | 340 | 345 | 350 |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Ala | 355 | 360 | 365 |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | 370 | 375 | 380 |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Ala | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | 385 | 390 | 395 | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | 405 | 410 | 415 |     |

```

Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
      420      425      430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
      435      440      445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
      450      455      460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465      470      475      480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser His His His His His His
      485      490      495

```

```

<210> 191
<211> 17
<212> Белок
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<223> C-terminal peptide cleaved from rHuPH20 aa 431-447

```

```

<400> 191
Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe
 1           5           10           15
Tyr

```

```

<210> 192
<211> 16
<212> Белок
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<223> С-концевой пептид, отщепленный от rHuPH20 aa 431-446

```

```

<400> 192
Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile Phe
 1           5           10           15

```

```

<210> 193
<211> 15
<212> Белок
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<223> С-концевой пептид, отщепленный от rHuPH20 aa 431-445

```

```

<400> 193
Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
 1           5           10           15

```

```

<210> 194
<211> 14
<212> Белок
<213> Homo sapiens

```

```

<220>
<223> С-концевой пептид, отщепленный от rHuPH20 aa 431-444

```



&lt;400&gt; 194

Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln  
 1 5 10

&lt;210&gt; 195

&lt;211&gt; 13

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; С-концевой пептид, отщепленный от rHuPH20 aa 431-443

&lt;400&gt; 195

Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro  
 1 5 10

&lt;210&gt; 196

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; С-концевой пептид, отщепленный от rHuPH20 aa 431-442

&lt;400&gt; 196

Asp Ala Phe Lys Leu Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu  
 1 5 10

&lt;210&gt; 197

&lt;211&gt; 510

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Pan troglodytes

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PH20 шимпанзе

&lt;400&gt; 197

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |  |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |  |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |  |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |  |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |  |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |  |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |  |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |  |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |  |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |  |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |  |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |  |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |  |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |  |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Gln | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |  |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |  |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Val | Tyr | Thr |  |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |  |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |  |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |  |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |  |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |  |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |  |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |  |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |  |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |  |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |  |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |  |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |  |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |  |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |  |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |  |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |  |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |  |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |  |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |  |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |  |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |  |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Ser | Gln | Ile |  |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |  |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | Ala | Thr | Met | Phe | Ile | Asp |  |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |  |
| Leu | Cys | Asp | Leu | Tyr | Leu | Val | Pro | Thr | Ser | Tyr | Leu | Ile | Leu |     |     |  |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |  |

&lt;210&gt; 198

&lt;211&gt; 512

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Macaca mulatta

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PH20 макаки резус

&lt;400&gt; 198

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
| 50  |     |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asn | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Thr | Leu | Met | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ile | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Leu | Thr | Thr | Gly | Val | Thr | Val | His | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Val | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ser | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Gln | Asp | Ile | Leu | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Pro | Gln | Ala | Thr | Asp | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Met | Leu | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Arg |
|     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Ser | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Arg | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asp |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Val | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Val | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     | 275 |     |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Asn | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Val | Tyr | Ala |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Leu | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Arg | Glu | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Ser | Thr | Leu | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Ser | Leu | Ser | Ile | Thr | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Thr | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asp | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Asp | Ile | Arg | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | His | Gly | Lys | Pro | Thr | Val | Glu | Asp | Leu | Glu | Glu | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Thr | Asn | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Ser | Leu | Lys | Pro | Pro | Val | Glu | Thr | Glu | Gly | Ser | Pro | Pro |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Ile | Phe | Tyr | Asn | Thr | Ser | Ser | Ser | Thr | Val | Ser | Thr | Thr | Met | Phe | Ile |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |
| Trp | Arg | Leu | Glu | Val | Trp | Asp | Gln | Gly | Ile | Ser | Arg | Ile | Gly | Phe | Phe |
|     |     |     | 500 |     |     |     |     | 505 |     |     |     |     | 510 |     |     |

<210> 199  
 <211> 1485  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-LFLI кодон-оптимизированная ДНК с NheI и BamHI

<400> 199

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaaa 1200
ggtggtaaat tcaactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440
accatgttca tcgtatctat acttttctctg atttgataag gatcc 1485

```

<210> 200  
 <211> 1479  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-SILF кодон-оптимизированная ДНК с NheI и BamHI

<400> 200

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca cggaaaaagc taagcaggaa 540
ttcagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
ccgggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020

```

```

ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440
accatgttca tcgtatctat acttttctga taaggatcc 1479

```

<210> 201

<211> 1473

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-IVSI кодон-оптимизированная ДНК с NheI и BamHI

<400> 201

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggag ccatcagggg gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctcccct cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaaat tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440
accatgttca tcgtatctat atgataagga tcc 1479

```

<210> 202

<211> 496

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> PH20sHis N82A

<400> 202

```

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

```

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Ala | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
| 210 |     |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | His | His | His | His | His | His |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |

&lt;210&gt; 203

&lt;211&gt; 496

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PH20sHis N166A

&lt;400&gt; 203

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys | 1   | 5   | 10  | 15  |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys | 20  | 25  | 30  |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro | 35  | 40  | 45  |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe | 50  | 55  | 60  |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg | 65  | 70  | 75  | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu | 85  | 90  | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly | 100 | 105 | 110 |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys | 115 | 120 | 125 |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val | 130 | 135 | 140 |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro | 145 | 150 | 155 | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Ala | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn | 165 | 170 | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe | 180 | 185 | 190 |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys | 195 | 200 | 205 |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys | 210 | 215 | 220 |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn | 225 | 230 | 235 | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser | 245 | 250 | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val | 260 | 265 | 270 |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val | 275 | 280 | 285 |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr | 290 | 295 | 300 |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu | 305 | 310 | 315 | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile | 325 | 330 | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu | 340 | 345 | 350 |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn | 355 | 360 | 365 |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln | 370 | 375 | 380 |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu | 385 | 390 | 395 | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr | 405 | 410 | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys | 420 | 425 | 430 |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp | 435 | 440 | 445 |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
| 450 |     |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | His | His | His | His | His | His |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |

&lt;210&gt; 204

&lt;211&gt; 496

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PH20sHis N235A

&lt;400&gt; 204

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Ala | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Asn | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |



|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | His | His | His | His | His | His |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |

|       |                                  |
|-------|----------------------------------|
| <210> | 205                              |
| <211> | 496                              |
| <212> | Белок                            |
| <213> | Искусственная последовательность |

<220>  
<223> PH20sHis N254A

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

```

Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
      260                      265                      270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
      275                      280                      285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
      290                      295                      300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
305                      310                      315                      320
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
      325                      330                      335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
      340                      345                      350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
      355                      360                      365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
      370                      375                      380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
385                      390                      395                      400
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
      405                      410                      415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
      420                      425                      430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
      435                      440                      445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
      450                      455                      460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
465                      470                      475                      480
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser His His His His His
      485                      490                      495

```

<210> 206

<211> 496

<212> Белок

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> PH20sHis N82A/N166A

<400> 206

```

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

```

```

Lys Asp Val Tyr Lys Ala Arg Ser Ile Glu Leu Val Gln Gln Gln Asn
      165      170      175
Val Gln Leu Ser Leu Thr Glu Ala Thr Glu Lys Ala Lys Gln Glu Phe
      180      185      190
Glu Lys Ala Gly Lys Asp Phe Leu Val Glu Thr Ile Lys Leu Gly Lys
      195      200      205
Leu Leu Arg Pro Asn His Leu Trp Gly Tyr Tyr Leu Phe Pro Asp Cys
      210      215      220
Tyr Asn His His Tyr Lys Lys Pro Gly Tyr Asn Gly Ser Cys Phe Asn
      225      230      235
Val Glu Ile Lys Arg Asn Asp Asp Leu Ser Trp Leu Trp Asn Glu Ser
      245      250      255
Thr Ala Leu Tyr Pro Ser Ile Tyr Leu Asn Thr Gln Gln Ser Pro Val
      260      265      270
Ala Ala Thr Leu Tyr Val Arg Asn Arg Val Arg Glu Ala Ile Arg Val
      275      280      285
Ser Lys Ile Pro Asp Ala Lys Ser Pro Leu Pro Val Phe Ala Tyr Thr
      290      295      300
Arg Ile Val Phe Thr Asp Gln Val Leu Lys Phe Leu Ser Gln Asp Glu
      305      310      315
Leu Val Tyr Thr Phe Gly Glu Thr Val Ala Leu Gly Ala Ser Gly Ile
      325      330      335
Val Ile Trp Gly Thr Leu Ser Ile Met Arg Ser Met Lys Ser Cys Leu
      340      345      350
Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn
      355      360      365
Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln
      370      375      380
Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu
      385      390      395
Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr
      405      410      415
Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys
      420      425      430
Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp
      435      440      445
Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys
      450      455      460
Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile
      465      470      475
Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser His His His His His His
      485      490      495

```

&lt;210&gt; 207

&lt;211&gt; 496

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PH20sHis N82A/N254A

&lt;400&gt; 207

```

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

```

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Ala | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Asn | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Ala | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     | 250 |     |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     | 330 |     |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
|     | 450 |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | His | His | His | His | His | His |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |

&lt;210&gt; 208

&lt;211&gt; 496

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PH20sHis N166A/N254A

&lt;400&gt; 208

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     | 20  |     |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Asn | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Ala | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     | 195 |     |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Ala | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |
| Leu | Leu | Asp | Asn | Tyr | Met | Glu | Thr | Ile | Leu | Asn | Pro | Tyr | Ile | Ile | Asn |
|     |     | 355 |     |     |     |     | 360 |     |     |     |     | 365 |     |     |     |
| Val | Thr | Leu | Ala | Ala | Lys | Met | Cys | Ser | Gln | Val | Leu | Cys | Gln | Glu | Gln |
|     | 370 |     |     |     |     | 375 |     |     |     |     | 380 |     |     |     |     |
| Gly | Val | Cys | Ile | Arg | Lys | Asn | Trp | Asn | Ser | Ser | Asp | Tyr | Leu | His | Leu |
| 385 |     |     |     |     | 390 |     |     |     |     | 395 |     |     |     |     | 400 |
| Asn | Pro | Asp | Asn | Phe | Ala | Ile | Gln | Leu | Glu | Lys | Gly | Gly | Lys | Phe | Thr |
|     |     |     |     | 405 |     |     |     |     | 410 |     |     |     |     | 415 |     |
| Val | Arg | Gly | Lys | Pro | Thr | Leu | Glu | Asp | Leu | Glu | Gln | Phe | Ser | Glu | Lys |
|     |     |     | 420 |     |     |     |     | 425 |     |     |     |     | 430 |     |     |
| Phe | Tyr | Cys | Ser | Cys | Tyr | Ser | Thr | Leu | Ser | Cys | Lys | Glu | Lys | Ala | Asp |
|     |     | 435 |     |     |     |     | 440 |     |     |     |     | 445 |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Lys | Asp | Thr | Asp | Ala | Val | Asp | Val | Cys | Ile | Ala | Asp | Gly | Val | Cys |
| 450 |     |     |     |     |     | 455 |     |     |     |     | 460 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Ala | Phe | Leu | Lys | Pro | Pro | Met | Glu | Thr | Glu | Glu | Pro | Gln | Ile |
| 465 |     |     |     |     | 470 |     |     |     |     | 475 |     |     |     |     | 480 |
| Phe | Tyr | Asn | Ala | Ser | Pro | Ser | Thr | Leu | Ser | His | His | His | His | His | His |
|     |     |     |     | 485 |     |     |     |     | 490 |     |     |     |     | 495 |     |

&lt;210&gt; 209

&lt;211&gt; 496

&lt;212&gt; Белок

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; PH20sHis N82A/N166A/N254A

&lt;400&gt; 209

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Val | Leu | Lys | Phe | Lys | His | Ile | Phe | Phe | Arg | Ser | Phe | Val | Lys |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
| Ser | Ser | Gly | Val | Ser | Gln | Ile | Val | Phe | Thr | Phe | Leu | Leu | Ile | Pro | Cys |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
| Cys | Leu | Thr | Leu | Asn | Phe | Arg | Ala | Pro | Pro | Val | Ile | Pro | Asn | Val | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
| Phe | Leu | Trp | Ala | Trp | Asn | Ala | Pro | Ser | Glu | Phe | Cys | Leu | Gly | Lys | Phe |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
| Asp | Glu | Pro | Leu | Asp | Met | Ser | Leu | Phe | Ser | Phe | Ile | Gly | Ser | Pro | Arg |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ile | Ala | Ala | Thr | Gly | Gln | Gly | Val | Thr | Ile | Phe | Tyr | Val | Asp | Arg | Leu |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Gly | Tyr | Tyr | Pro | Tyr | Ile | Asp | Ser | Ile | Thr | Gly | Val | Thr | Val | Asn | Gly |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Gly | Ile | Pro | Gln | Lys | Ile | Ser | Leu | Gln | Asp | His | Leu | Asp | Lys | Ala | Lys |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |
| Lys | Asp | Ile | Thr | Phe | Tyr | Met | Pro | Val | Asp | Asn | Leu | Gly | Met | Ala | Val |
|     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Ile | Asp | Trp | Glu | Glu | Trp | Arg | Pro | Thr | Trp | Ala | Arg | Asn | Trp | Lys | Pro |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Lys | Asp | Val | Tyr | Lys | Ala | Arg | Ser | Ile | Glu | Leu | Val | Gln | Gln | Gln | Asn |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Val | Gln | Leu | Ser | Leu | Thr | Glu | Ala | Thr | Glu | Lys | Ala | Lys | Gln | Glu | Phe |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |     |     |
| Glu | Lys | Ala | Gly | Lys | Asp | Phe | Leu | Val | Glu | Thr | Ile | Lys | Leu | Gly | Lys |
|     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |     |     |     |
| Leu | Leu | Arg | Pro | Asn | His | Leu | Trp | Gly | Tyr | Tyr | Leu | Phe | Pro | Asp | Cys |
|     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |     |     |     |     |
| Tyr | Asn | His | His | Tyr | Lys | Lys | Pro | Gly | Tyr | Asn | Gly | Ser | Cys | Phe | Asn |
| 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |     |     |     |     | 240 |
| Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Asn | Asp | Asp | Leu | Ser | Trp | Leu | Trp | Ala | Glu | Ser |
|     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |     |
| Thr | Ala | Leu | Tyr | Pro | Ser | Ile | Tyr | Leu | Asn | Thr | Gln | Gln | Ser | Pro | Val |
|     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |     |     |
| Ala | Ala | Thr | Leu | Tyr | Val | Arg | Asn | Arg | Val | Arg | Glu | Ala | Ile | Arg | Val |
|     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |     |     |     |
| Ser | Lys | Ile | Pro | Asp | Ala | Lys | Ser | Pro | Leu | Pro | Val | Phe | Ala | Tyr | Thr |
|     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |     |     |     |     |
| Arg | Ile | Val | Phe | Thr | Asp | Gln | Val | Leu | Lys | Phe | Leu | Ser | Gln | Asp | Glu |
| 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |     |     |     |     | 320 |
| Leu | Val | Tyr | Thr | Phe | Gly | Glu | Thr | Val | Ala | Leu | Gly | Ala | Ser | Gly | Ile |
|     |     |     |     | 325 |     |     |     |     | 330 |     |     |     |     | 335 |     |
| Val | Ile | Trp | Gly | Thr | Leu | Ser | Ile | Met | Arg | Ser | Met | Lys | Ser | Cys | Leu |
|     |     |     | 340 |     |     |     |     | 345 |     |     |     |     | 350 |     |     |

Leu Leu Asp Asn Tyr Met Glu Thr Ile Leu Asn Pro Tyr Ile Ile Asn  
           355                                  360                                  365  
 Val Thr Leu Ala Ala Lys Met Cys Ser Gln Val Leu Cys Gln Glu Gln  
           370                                  375                                  380  
 Gly Val Cys Ile Arg Lys Asn Trp Asn Ser Ser Asp Tyr Leu His Leu  
 385                                  390                                  395                                  400  
 Asn Pro Asp Asn Phe Ala Ile Gln Leu Glu Lys Gly Gly Lys Phe Thr  
                                   405                                  410                                  415  
 Val Arg Gly Lys Pro Thr Leu Glu Asp Leu Glu Gln Phe Ser Glu Lys  
                                   420                                  425                                  430  
 Phe Tyr Cys Ser Cys Tyr Ser Thr Leu Ser Cys Lys Glu Lys Ala Asp  
                                   435                                  440                                  445  
 Val Lys Asp Thr Asp Ala Val Asp Val Cys Ile Ala Asp Gly Val Cys  
           450                                  455                                  460  
 Ile Asp Ala Phe Leu Lys Pro Pro Met Glu Thr Glu Glu Pro Gln Ile  
 465                                  470                                  475                                  480  
 Phe Tyr Asn Ala Ser Pro Ser Thr Leu Ser His His His His His His  
                                   485                                  490                                  495

<210> 210  
 <211> 1494  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> ДНК PH20sHis

<400> 210  
 atgggagtg ctaaaattcaa gcacatcttt ttcagaagct ttgttaaadc aagtggagta 60  
 tcccagatag ttttcacctt ccttctgatt ccatgttgct tgactcttaa cttcagagct 120  
 cccctgttaa tcccaaactg ccccttcttg tgggcatgga acgcccctag cgaattctgt 180  
 ttggggaaat ttgacgaacc tctggacatg tctctgtttt cttttatcgg tagccctcga 240  
 atcaacgcta ccggacaggg ggtgacaatc ttttacgtgg atcgtctggg ctattaccct 300  
 tacatcgaca gcattactgg ggtgaccgtg aacggaggga ttcctcagaa aatatcactg 360  
 caggaccacc tggacaaaag taagaaggat attacattct acatgccagt ggacaatctc 420  
 ggaatggctg tgattgactg ggaggagtgg agacctactt gggcccgaat ttggaagccc 480  
 aaggatgtgt ataagaaccg atccattgag ctggtgcagc agcagaacgt gcagctgtcc 540  
 cttacagaag ccaccgaaaa agctaagcag gaattcgaga aagctgggaa ggatttcctg 600  
 gttgagacaa taaaacttgg gaaactgctt agacctaac acctctgggg ctattatttg 660  
 ttccccgatt gctacaatca ccactataag aagcccggct acaacggatc ttgtttcaac 720  
 gtcgaaatta aaagaaacga tgacctctct tgggtgtgga atgagtctac tgcactctac 780  
 ccctctatat atctcaacac acagcagtc cagtagccg ctaccctcta cgttcggaat 840  
 agagtggagg aagccatcag ggtgtccaag atccccgatg ccaaactctc cctcccagtg 900  
 tttgcctaca ccaggatcgt gtttaccgac cagggtgttg agttcctgag ccaggacgag 960  
 ctctgtgata cttttggcga gacagtgtgt ctgggagcct ctgggatcgt gatctggggc 1020  
 actctgagta ttatgcgatc aatgaagtcc tgcctgctgt tggataacta catggagaca 1080  
 atcctgaacc catatatcat taacgtgact ttggccgcta agatgtgttc acagggtgctg 1140  
 tgtcaagagc agggagtatg cattaggaag aactggaact caagcgatta tctccatctg 1200  
 aaccagata attttgcaat ccagctggaa aagggtggta aattcactgt ccgaggggaa 1260  
 cccacactcg aggatctcga acagttagt gaaaagtctt actgtagctg ctatagcact 1320  
 ctgagttgta aggaaaaagc cgatgtgaaa gacactgatg ccgttgacgt ttgcatcgcc 1380  
 gatgggtgt gtattgacgc ctttctcaag ccaccaatgg agactgagga gccccagatc 1440  
 ttttacaacg cctccccctc caccttgagt catcatcatc atcatcatta gtaa 1494

<210> 211  
 <211> 1497  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>

&lt;223&gt; SPAM1-ISSV

&lt;400&gt; 211

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaaa atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctcccc tccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380
ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440
accatgttca tcgtatctat acttttctctg attatatcaa gcgtgtgata aggatcc 1497

```

&lt;210&gt; 212

&lt;211&gt; 1491

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SPAM1-LIIS

&lt;400&gt; 212

```

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctgttggggc ttcttctgct ttggctccct 60
ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120
gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180
ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240
tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300
ggaggcattc ctcagaaaaa atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360
acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420
cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480
gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540
ttcgagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600
cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660
cccggtctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720
ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780
gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggag ccatcagggt gtccaagatc 840
cccgatgcca aatctcccc tccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900
gtgttgaagt tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960
ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020
ctgctgttgg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080
gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140
tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200
ggtggtaaat tcactgtccg agggaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260
aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320
actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380

```



ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440  
 accatgttca tcgtatctat acttttcttg attatatcat gataaggatc c 1491

<210> 213

<211> 1467

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-MFIV

<400> 213

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctggtggggc ttcttctgct ttggctccct 60  
 ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120  
 gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180  
 ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240  
 tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300  
 ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360  
 acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420  
 cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480  
 gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540  
 ttcagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600  
 cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660  
 cccggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720  
 ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780  
 gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840  
 cccgatgcca aatctccctt cccagtgttt gcctacacca ggatcgtgtt taccgaccag 900  
 gtgttgaaatg tcctgagcca ggacgagctc gtgtatactt ttggcgagac agttgctctg 960  
 ggagcctctg ggatcgtgat ctggggcact ctgagtatta tgcgatcaat gaagtcctgc 1020  
 ctgctgtttg ataactacat ggagacaatc ctgaacccat atatcattaa cgtgactttg 1080  
 gccgctaaga tgtgttcaca ggtgctgtgt caagagcagg gagtatgcat taggaagaac 1140  
 tggaactcaa gcgattatct ccatctgaac ccagataatt ttgcaatcca gctggaaaag 1200  
 ggtggtaaat tcaactgtccg agggaaagccc aactcagagg atctcgaaca gtttagtgaa 1260  
 aagttctact gtagctgcta tagcactctg agttgtaagg aaaaagccga tgtgaaagac 1320  
 actgatgccg ttgacgtttg catcgccgat ggggtgtgta ttgacgcctt tctcaagcca 1380  
 ccaatggaga ctgaggagcc ccagatcttt tacaacgcct cccctccac cttgagtgtc 1440  
 accatgttca tcgtatgata aggatcc 1467

<210> 214

<211> 1461

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> SPAM1-ATMF

<400> 214

gctagcatgg acatgagggg accagcccag ctggtggggc ttcttctgct ttggctccct 60  
 ggggcaaggg gacttaactt cagagctccc cctgtaatcc caaacgtccc cttcctgtgg 120  
 gcatggaacg cccctagcga attctgtttg gggaaatttg acgaacctct ggacatgtct 180  
 ctgttttctt ttatcggtag ccctcgaatc aacgctaccg gacagggggg gacaatcttt 240  
 tacgtggatc gtctgggcta ttacccttac atcgacagca ttactggggg gaccgtgaac 300  
 ggaggcattc ctcagaaaat atcactgcag gaccacctgg acaaagctaa gaaggatatt 360  
 acattctaca tgccagtggg caatctcgga atggctgtga ttgactggga ggagtggaga 420  
 cctacttggg cccgaaattg gaagcccaag gatgtgtata agaaccgatc cattgagctg 480  
 gtgcagcagc agaacgtgca gctgtccctt acagaagcca ccgaaaaagc taagcaggaa 540  
 ttcagaaaag ctgggaagga tttcctgggt gagacaataa aacttgggaa actgcttaga 600  
 cctaaccacc tctggggcta ttatttggtc cccgattgct acaatcacca ctataagaag 660  
 cccggctaca acggatcttg tttcaacgtc gaaattaaaa gaaacgatga cctctcttgg 720  
 ttgtggaatg agtctactgc actctacccc tctatatatc tcaacacaca gcagtcccca 780  
 gtagccgcta ccctctacgt tcggaataga gtgaggggaag ccatcagggt gtccaagatc 840

|            |            |             |            |            |            |      |
|------------|------------|-------------|------------|------------|------------|------|
| cccgatgcc  | aatctcccc  | cccagtgtt   | gcctacacca | ggatcgtgt  | taccgaccag | 900  |
| gtgttgaagt | tcctgagcca | ggacgagctc  | gtgtatactt | ttggcgagac | agttgctctg | 960  |
| ggagcctctg | ggatcgtgat | ctggggcact  | ctgagtatta | tgcgatcaat | gaagtcctgc | 1020 |
| ctgctgttgg | ataactacat | ggagacaatc  | ctgaacccat | atatcattaa | cgtgactttg | 1080 |
| gccgctaaga | tgtgttcaca | ggtgctgtgt  | caagagcagg | gagtatgcat | taggaagaac | 1140 |
| tggaactcaa | gcgattatct | ccatctgaac  | ccagataatt | ttgcaatcca | gctggaaaag | 1200 |
| ggtggtaaat | tcactgtccg | agggaaagccc | acactcgagg | atctcgaaca | gtttagttaa | 1260 |
| aagttctact | gtagctgcta | tagcactctg  | agttgtaagg | aaaaagccga | tgtgaaagac | 1320 |
| actgatgccg | ttgacgtttg | catcgccgat  | ggggtgtgta | ttgacgcctt | tctcaagcca | 1380 |
| ccaatggaga | ctgaggagcc | ccagatcttt  | tacaacgcct | ccccctccac | cttgagtgtc | 1440 |
| acatgtttct | gataaggatc | c           |            |            |            | 1461 |

&lt;210&gt; 215

&lt;211&gt; 1455

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SPAM1-LSAT

&lt;400&gt; 215

|            |            |             |             |            |            |      |
|------------|------------|-------------|-------------|------------|------------|------|
| gctagcatgg | acatgaggg  | accagcccag  | ctgttggggc  | ttcttctgct | ttggtccct  | 60   |
| ggggcaagg  | gacttaactt | cagagctccc  | cctgtaatcc  | caaacgtccc | cttcctgtgg | 120  |
| gcatggaacg | cccctagcga | attctgtttg  | gggaaatttg  | acgaacctct | ggacatgtct | 180  |
| ctgttttctt | ttatcggtag | ccctcgaatc  | aacgctaccg  | gacaggggg  | gacaatcttt | 240  |
| tacgtggatc | gtctgggcta | ttacccttac  | atcgacagca  | ttactgggg  | gaccgtgaac | 300  |
| ggaggcattc | ctcagaaaat | atcactgcag  | gaccacctgg  | acaaagctaa | gaaggatatt | 360  |
| acattctaca | tgccagtggg | caatctcgga  | atggctgtga  | ttgactggga | ggagtggaga | 420  |
| cctacttggg | cccgaatttg | gaagcccaag  | gatgtgtata  | agaaccgatc | cattgagctg | 480  |
| gtgcagcagc | agaacgtgca | gctgtccctt  | acagaagcca  | ccgaaaaagc | taagcaggaa | 540  |
| ttcagaaaa  | ctgggaagga | tttcctgggt  | gagacaataa  | aacttgggaa | actgcttaga | 600  |
| cctaaccacc | tctggggcta | ttatttggtc  | cccgattgct  | acaatcacca | ctataagaag | 660  |
| cccggctaca | acggatcttg | tttcaacgtc  | gaaattaaaa  | gaaacgatga | cctctcttgg | 720  |
| ttgtggaatg | agtctactgc | actctacccc  | tctatatatc  | tcaacacaca | gcagtcccca | 780  |
| gtagccgcta | ccctctacgt | tcggaataga  | gtgaggggaag | ccatcagggt | gtccaagatc | 840  |
| cccgatgcc  | aatctcccc  | cccagtgtt   | gcctacacca  | ggatcgtgt  | taccgaccag | 900  |
| gtgttgaagt | tcctgagcca | ggacgagctc  | gtgtatactt  | ttggcgagac | agttgctctg | 960  |
| ggagcctctg | ggatcgtgat | ctggggcact  | ctgagtatta  | tgcgatcaat | gaagtcctgc | 1020 |
| ctgctgttgg | ataactacat | ggagacaatc  | ctgaacccat  | atatcattaa | cgtgactttg | 1080 |
| gccgctaaga | tgtgttcaca | ggtgctgtgt  | caagagcagg  | gagtatgcat | taggaagaac | 1140 |
| tggaactcaa | gcgattatct | ccatctgaac  | ccagataatt  | ttgcaatcca | gctggaaaag | 1200 |
| ggtggtaaat | tcactgtccg | agggaaagccc | acactcgagg  | atctcgaaca | gtttagttaa | 1260 |
| aagttctact | gtagctgcta | tagcactctg  | agttgtaagg  | aaaaagccga | tgtgaaagac | 1320 |
| actgatgccg | ttgacgtttg | catcgccgat  | ggggtgtgta  | ttgacgcctt | tctcaagcca | 1380 |
| ccaatggaga | ctgaggagcc | ccagatcttt  | tacaacgcct  | ccccctccac | cttgagtgtc | 1440 |
| acctgataag | gatcc      |             |             |            |            | 1455 |

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения полипептида гиалуронидазы PH20, включающий культивирование клеток, содержащих нуклеиновую кислоту, кодирующую гиалуронидазу PH20, в условиях, обеспечивающих экспрессию закодированного полипептида в клетках, где закодированная гиалуронидаза PH20 является растворимой и активной в нейтральной среде и выбрана из:

а) полипептида, состоящего из последовательности аминокислот, приведенной как аминокислоты 36-465, 36-469, 36-470, 36-471, 36-474, 36-475, 36-476, 36-484, 36-486, 36-487, 36-488 или 36-489, 36-491, 36-492, 36-493, 36-495, 36-496, 36-497, 36-498, 36-499 или 36-500 в SEQ ID NO: 107; и

б) полипептида, включающего аминокислотные замены в последовательностях аминокислот, приведенных как аминокислоты 36-465, 36-469, 36-470, 36-471, 36-474, 36-475, 36-476, 36-484, 36-486, 36-487, 36-488 или 36-489, 36-491, 36-492, 36-493, 36-495, 36-496, 36-497, 36-498, 36-499 или 36-500 в SEQ ID NO: 107, в результате чего аминокислотная последовательность полипептида, включающего аминокислотные замены, идентична, по меньшей мере, на 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более соответствующей последовательности аминокислот, приведенной как аминокислоты 36-465, 36-469, 36-470, 36-471, 36-474, 36-475, 36-476, 36-484, 36-486, 36-487, 36-488 или 36-489, 36-491, 36-492, 36-493, 36-495, 36-496, 36-497, 36-498, 36-499 или 36-500 в SEQ ID NO: 107.

2. Способ по п. 1, дополнительно включающий выделение экспрессированного полипептида гиалуронидазы PH20

3. Способ получения полипептида гиалуронидазы PH20, включающий культивирование клеток, содержащих вектор, кодирующий полипептид гиалуронидазы PH20, в условиях, обеспечивающих экспрессию закодированного полипептида в клетках, где закодированная гиалуронидаза PH20 является растворимой и активной в нейтральной среде и выбрана из:

а) полипептида, состоящего из последовательности аминокислот, приведенной как аминокислоты 36-465, 36-469, 36-470, 36-471, 36-474, 36-475, 36-476, 36-484, 36-486, 36-487, 36-488 или 36-489, 36-491, 36-492, 36-493, 36-495, 36-496, 36-497, 36-498, 36-499 или 36-500 в SEQ ID NO: 107; и

б) полипептида, включающего аминокислотные замены в последовательностях аминокислот, приведенных как аминокислоты 36-465, 36-469, 36-470, 36-471, 36-474,

36-475, 36-476, 36-484, 36-486, 36-487, 36-488 или 36-489, 36-491, 36-492, 36-493, 36-495, 36-496, 36-497, 36-498, 36-499 или 36-500 в SEQ ID NO: 107, в результате чего аминокислотная последовательность полипептида, включающего аминокислотные замены, идентична, по меньшей мере, на 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более соответствующей последовательности аминокислот, приведенной как аминокислоты 36-465, 36-469, 36-470, 36-471, 36-474, 36-475, 36-476, 36-484, 36-486, 36-487, 36-488 или 36-489, 36-491, 36-492, 36-493, 36-495, 36-496, 36-497, 36-498, 36-499 или 36-500 в SEQ ID NO: 107

4. Способ по п. 3, дополнительно включающий выделение экспрессированного полипептида гиалуронидазы PH20.

5. Способ по п. 3 или п. 4, где вектор является вектором экспрессии, который включает полинуклеотид, состоящий из последовательности нуклеотидов, кодирующей полипептид гиалуронидазы PH20, после которого немедленно следует стоп-кодон, функционально вставленный в вектор для экспрессии полипептида гиалуронидазы PH20.

6. Способ по любому из пп. 1-5, где закодированный полипептид гиалуронидазы PH20 состоит из последовательности аминокислот, приведенной как 36-491, 36-492, 36-493, 36-495, 36-496, 36-497, 36-498, 36-499 или 36-500 в SEQ ID NO: 107.

7. Способ по любому из пп. 1-5, где закодированный полипептид гиалуронидазы PH20 состоит из последовательности аминокислот, приведенной как 36-469, 36-470 или 36-471 в SEQ ID NO: 107.

8. Способ по любому из пп. 1-7, где гиалуронидаза PH20 N-гликозилирована.

9. Способ по любому из пп. 1-7, где гиалуронидаза PH20 содержит фрагмент N-ацетилглюкозамина, связанный с каждым из трех остатков аспарагина (N).

10. Способ по п. 9, где три остатка аспарагина представляют собой аминокислотные остатки 235, 368 и 393 из SEQ ID NO: 107.

11. Способ по любому из пп. 1-10, где гиалуронидаза PH20 модифицирована путем сиаилирования, альбуминирования, фарнезилирования, карбоксилирования, гидроксирования и/или фосфорилирования.

12. Способ по любому из пп. 1-10, где гиалуронидаза PH20 модифицирована полимером.

13. Способ по п. 12, в котором полимер представляет собой декстран или ПЭГ.

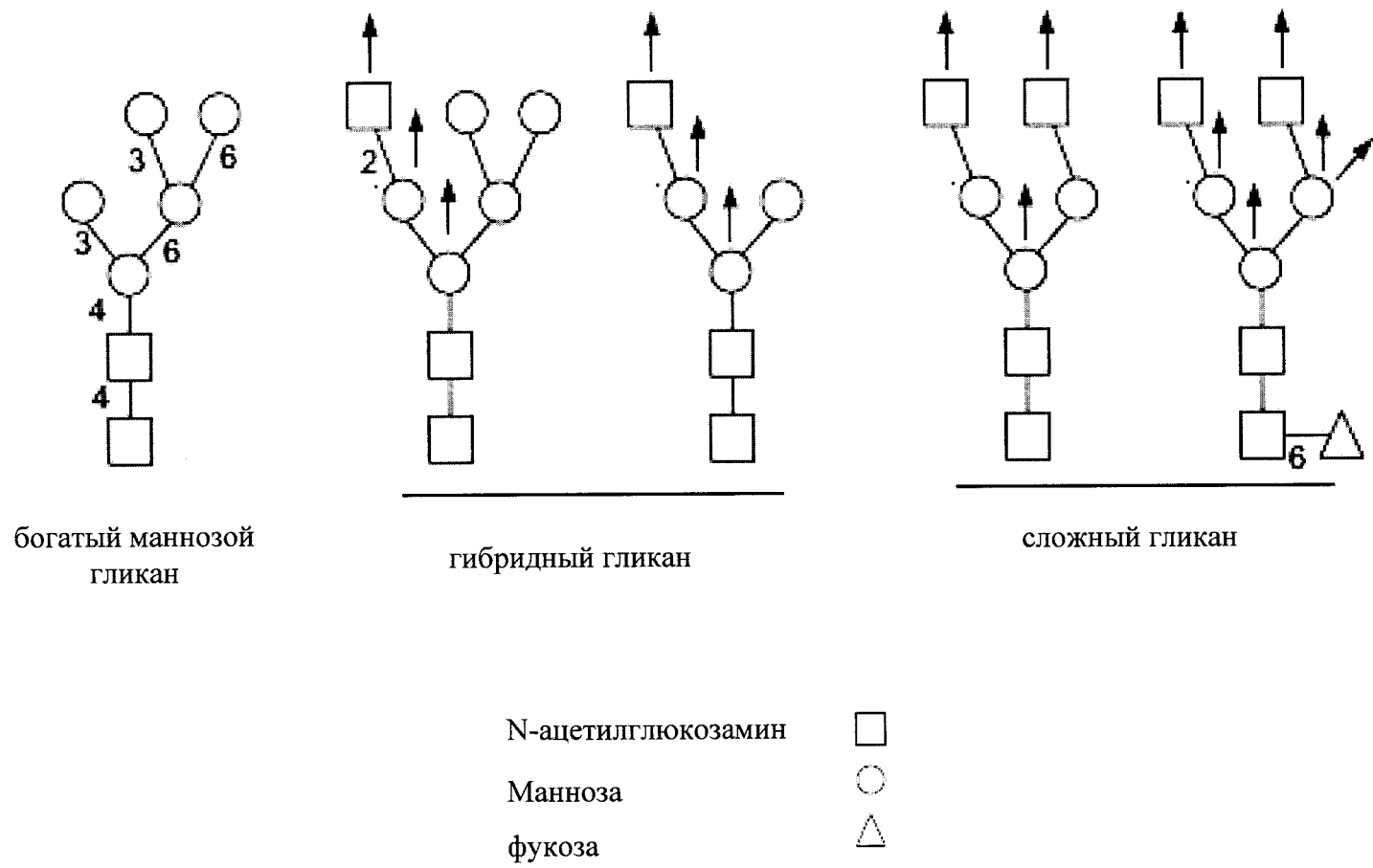
14. Способ по любому из пп. 1-13, где клетка является эукариотической клеткой.

15. Способ по п. 14, где эукариотическая клетка выбрана из клеток млекопитающих, клеток насекомых, маммализированных клеток насекомых, клеток дрожжей или клеток растений.

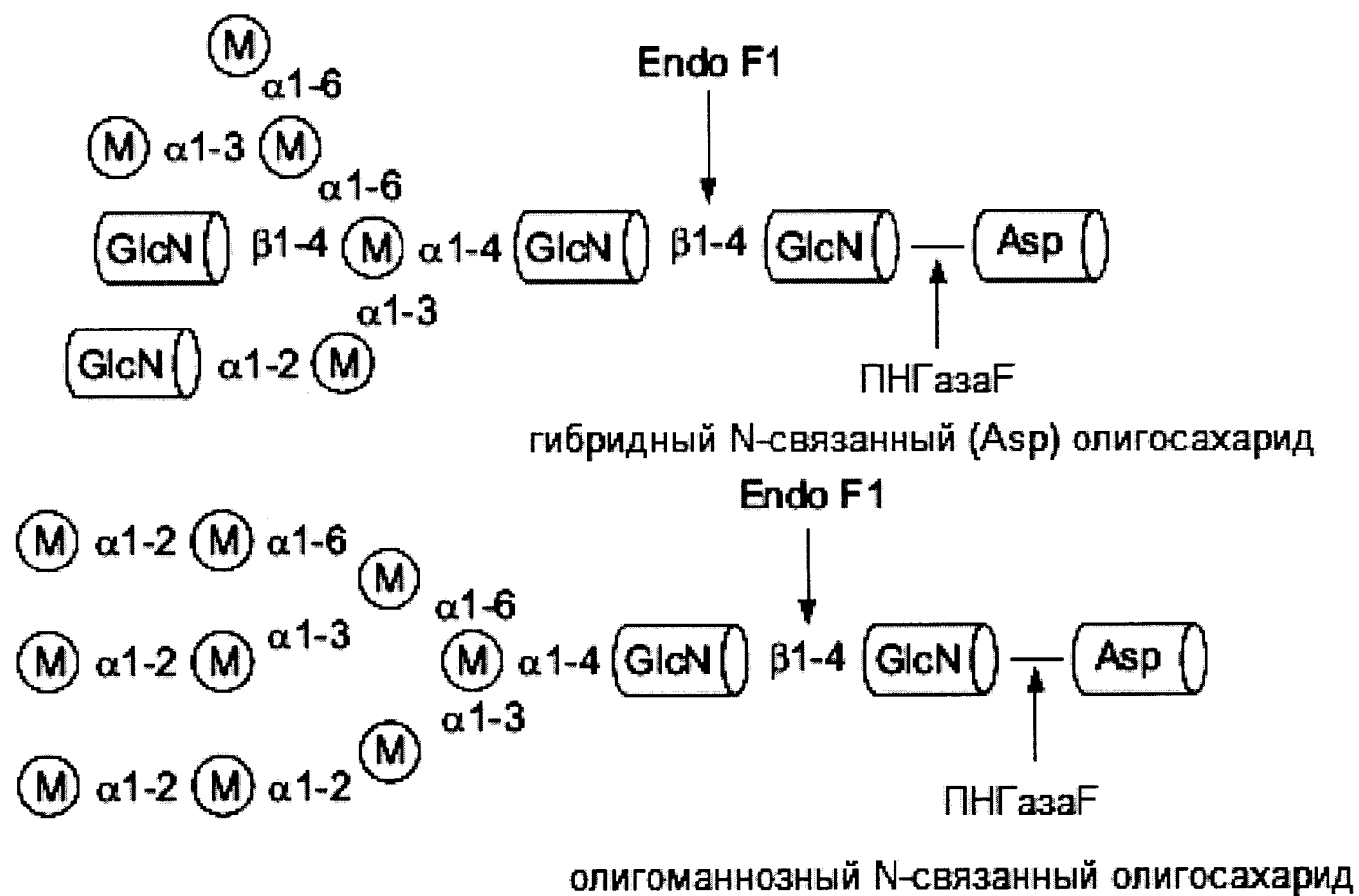
16. Способ по п. 15, где клетка является СНО клеткой.

|               |                                                                  |
|---------------|------------------------------------------------------------------|
| PH20 шимпанзе | MGVLKFKHIFRSEFKSSGVSQIVFTFLLIPCCLTLNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFC 60   |
| PH20 человека | MGVLKFKHIFRSEFKSSGVSQIVFTFLLIPCCLTLNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFC 60   |
|               | *****                                                            |
| PH20 шимпанзе | LGKFDPLMSLFSFIGSPRINATGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISL 120   |
| PH20 человека | LGKFDPLMSLFSFIGSPRINVTGQGVTFYVDRLGYYPYIDSI TGVTVNGGIPQKISL 120   |
|               | *****                                                            |
| PH20 шимпанзе | QDHLDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTWARNWPKDVYKNRSIELVQQQNVQLS 180  |
| PH20 человека | QDHLDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTWARNWPKDVYKNRSIELVQQQNVQLS 180  |
|               | *****                                                            |
| PH20 шимпанзе | LTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKPKGYNGSCFN 240  |
| PH20 человека | LTEATEKAKQEFKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKPKGYNGSCFN 240  |
|               | *****                                                            |
| PH20 шимпанзе | VEIKRNDOLSWLWNESTALYPSIYLNTOQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPV 300 |
| PH20 человека | VEIKRNDOLSWLWNESTALYPSIYLNTOQSPVAATLYVRNRVQEAIRVSKIPDAKSPLPV 300 |
|               | *****                                                            |
| PH20 шимпанзе | FAYTRIVFTDQVLKFLSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSIMRSMKSCLLLDNYMET 360 |
| PH20 человека | FVYTRIVFTDQVLKFLSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSIMRSMKSCLLLDNYMET 360 |
|               | * *****                                                          |
| PH20 шимпанзе | ILNPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVCIRKNWNSDYHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK 420   |
| PH20 человека | ILNPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVCIRKNWNSDYHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGK 420   |
|               | *****                                                            |
| PH20 шимпанзе | PTLEDLEQFSEKFYCSYSTLSCKEKADVKDTPAVDVCIDAGVCIDAFLEKPPMETEEPOI 480 |
| PH20 человека | PTLEDLEQFSEKFYCSYSTLSCKEKADVKDTPAVDVCIDAGVCIDAFLEKPPMETEESQI 480 |
|               | *****                                                            |
| PH20 шимпанзе | FYNASPSLTSATMET-VSILELTISSVASL 509                               |
| PH20 человека | FYNASPSLTSATMETIDLCCLYLVPISYLL 510                               |
|               | ***** . * . * . *                                                |

Фиг. 1

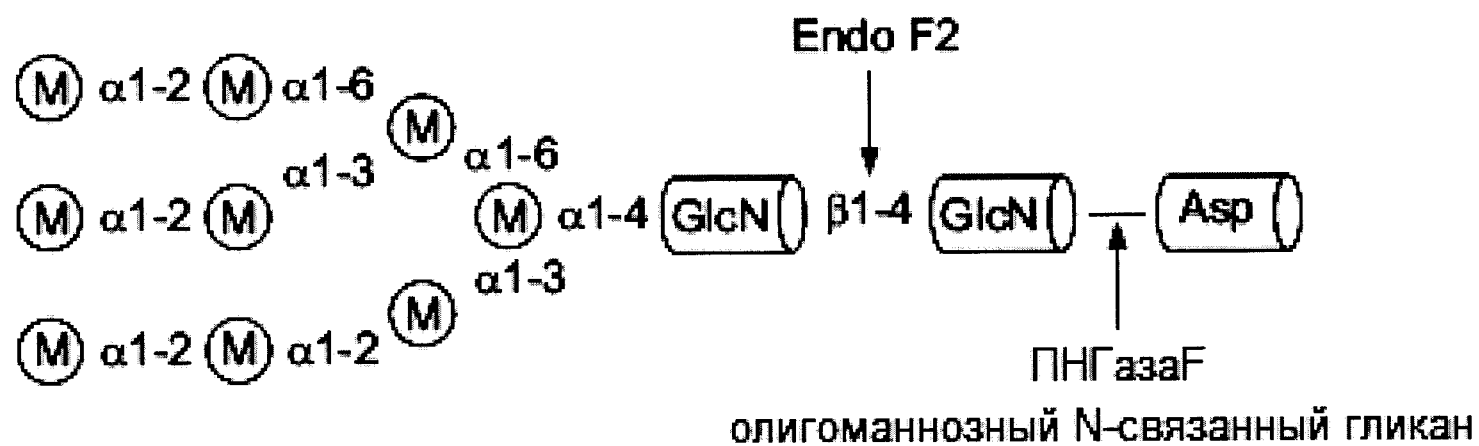
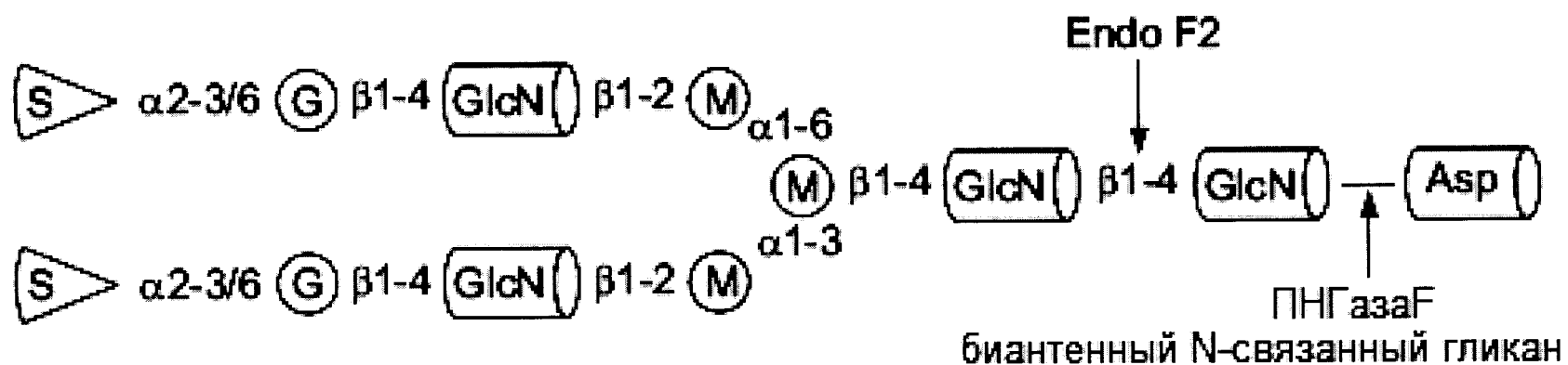


Фиг. 2

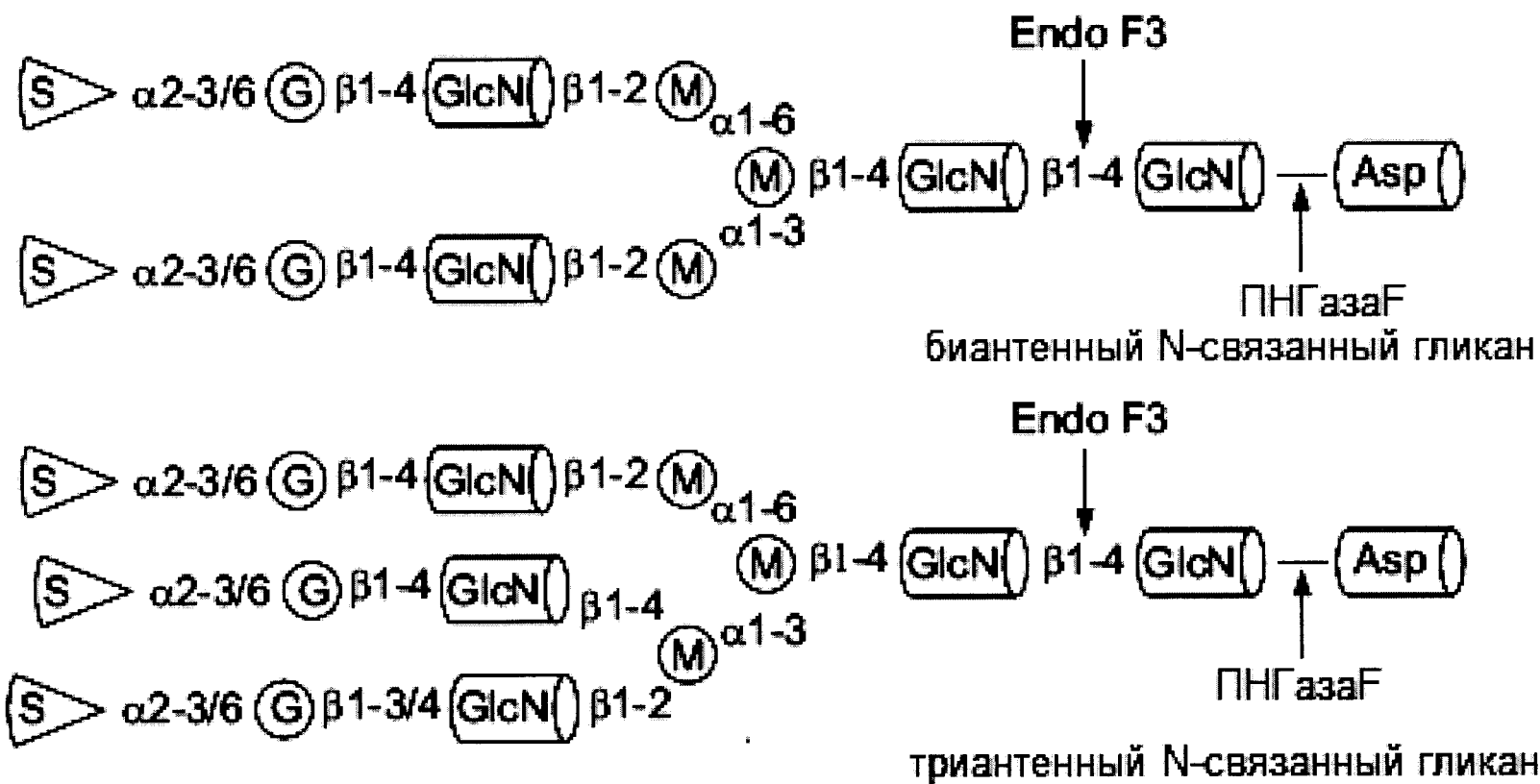


Фиг. 3А

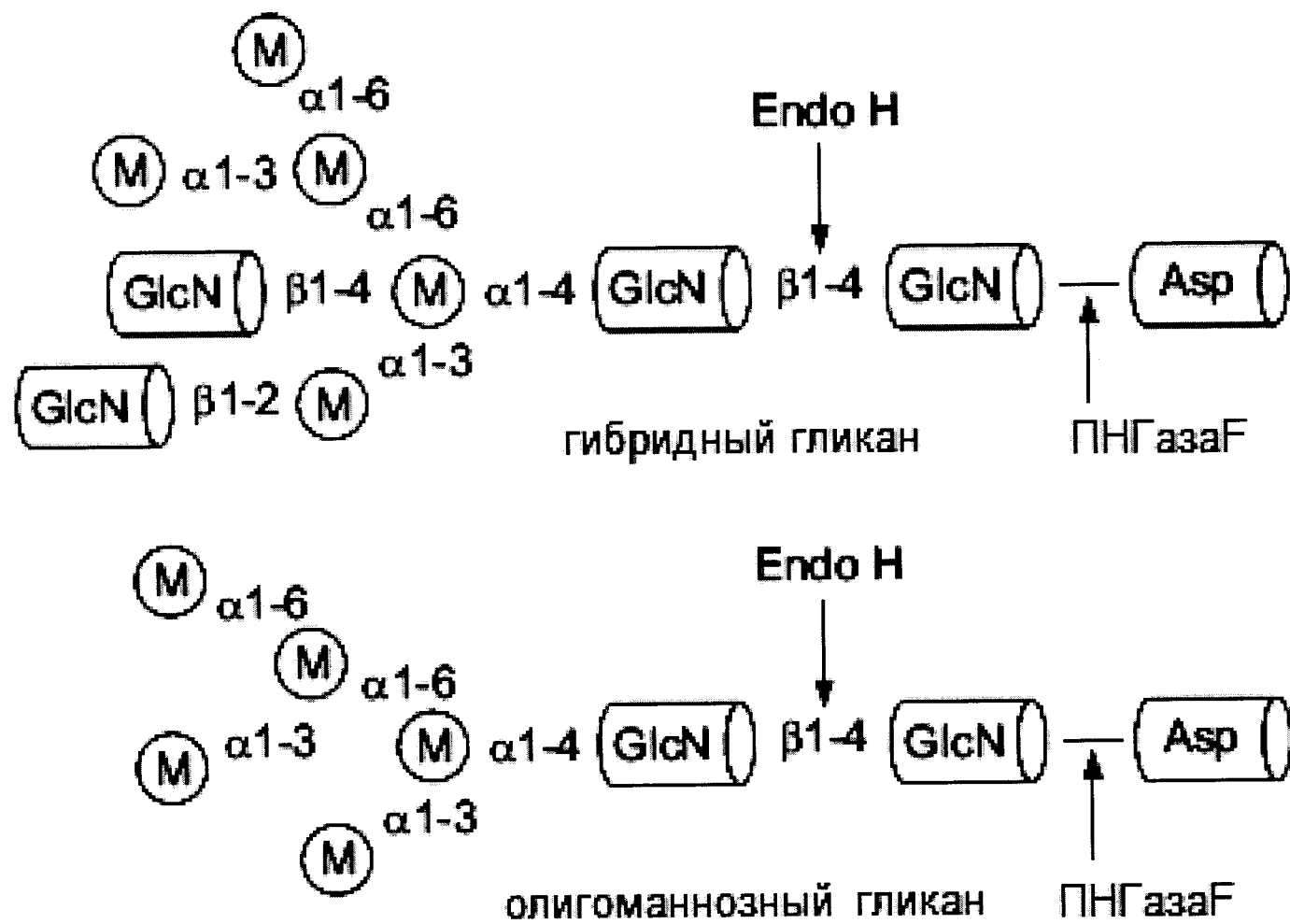




Фиг. 3В



Фиг. 3С



Фиг. 3D

## ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ  
ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42)

Номер евразийской заявки:

201500485

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| Дата подачи: 09 декабря 2009 (09.12.2009)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                 | Дата испрашиваемого приоритета: 09 декабря 2008 (09.12.2008)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                      |
| Название изобретения: Длинные растворимые полипептиды РН20 и их использование                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                      |
| Заявитель: ГАЛОЗИМ, ИНК.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                      |
| <input type="checkbox"/> Некоторые пункты формулы не подлежат поиску (см. раздел I дополнительного листа)<br><input type="checkbox"/> Единство изобретения не соблюдено (см. раздел II дополнительного листа)                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                      |
| А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                 | C12N 9/26 (2006.01)<br>C12N 15/00 (2006.01)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                      |
| Согласно Международной патентной классификации (МПК) или национальной классификации и МПК                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                      |
| Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                      |
| Минимум просмотренной документации (система классификации и индексы МПК)<br>C12N 9/00, 15/00, 9/26                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                      |
| Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в область поиска:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                      |
| В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                      |
| Категория*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Относится к пункту № |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | US 2004/0268425 A1 (DELIATROPH PHARMACEUTICALS, INC.) 30.12.2004, с. 1-5, 18-21 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 1-16                 |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | DATABASE GenBank: EAL24330.1, 10.08.2004                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 1-16                 |
| <input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении графы В<br>* Особые категории ссылочных документов:<br>"А" документ, определяющий общий уровень техники<br>"Е" более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее<br>"О" документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.<br>"Р" документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета<br>"D" документ, приведенный в евразийской заявке |                                                                                 | <input type="checkbox"/> данные о патентах-аналогах указаны в приложении<br>"Т" более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения<br>"Х" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности<br>"У" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории<br>"&" документ, являющийся патентом-аналогом<br>"L" документ, приведенный в других целях |                      |
| Дата действительного завершения патентного поиска:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                 | 11 августа 2015 (11.08.2015)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                      |
| Наименование и адрес Международного поискового органа:<br>Федеральный институт<br>промышленной собственности<br>РФ, 125993, Москва, Г-59, ГСП-3, Бережковская наб.,<br>д. 30-1. Факс: (499) 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                 | Уполномоченное лицо :<br> О.Шанова<br>Телефон № (499) 240-25-91                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                      |