

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201691669 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2017.01.30(22) Дата подачи заявки
2015.03.19(51) Int. Cl. C07K 14/765 (2006.01)
A61K 38/39 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
C07K 14/78 (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01)

(54) СВЯЗЫВАЮЩИЕ СЫВОРОТОЧНЫЙ АЛЬБУМИН ДОМЕНЫ ФИБРОНЕКТИНА III ТИПА

(31) 61/968,181

(32) 2014.03.20

(33) US

(86) PCT/US2015/021535

(87) WO 2015/143199 2015.09.24

(71) Заявитель:

БРИСТОЛ-МАЙЕРС СКВИББ
КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:

Митчелл Трейси С., Госселин Майкл
Л., Липовсек Даса, Паркер Рекс,
Камфаузен Рэй, Дэвис Джонатан,
Фабрицио Давид (US)

(74) Представитель:

Угрюмов В.М., Карпенко О.Ю.,
Гизатуллина Е.М., Лыу Т.Н.,
Дементьев В.Н., Глухарёва А.О.,
Строкова О.В. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к полипептидам, которые включают десятые домены фибронектина III типа (¹⁰Fn3), которые связываются с сывороточным альбумином, с заменами в петле "южного полюса". Настоящее изобретение дополнительно относится к гибридным молекулам, содержащим связывающий сывороточный альбумин ¹⁰Fn3, соединенный с гетерологичным белком, для применения в диагностических и терапевтических целях.

| Альбумин | | 2987_H07 (myo) | | 2013_E01 (PCSK9) | |
|----------|----------------------------|----------------|------------|------------------|------------|
| PKC | HSA EC _{3b} (0/3) | X-PKC | PKC-X | X-PKC | PKC-X |
| 1318_H04 | 5 | 31% (8/26) | 0% (0/26) | 31% (8/26) | X |
| 2629_E06 | 20 | 30% (3/10) | 30% (3/10) | 90% (9/10) | 90% (9/10) |
| 2630_D02 | 9 | 20% (2/10) | 30% (3/10) | 50% (5/10) | 90% (9/10) |

| HSA EC _{3b} /EC _{3b} myo |
|--|
| ≤ 2 |
| 2—5 |
| 5—10 |
| 10 |

X = табулы не образуются

201691669

A1

A1

201691669

СВЯЗЫВАЮЩИЕ СЫВОРОТОЧНЫЙ АЛЬБУМИН ДОМЕНЫ ФИБРОНЕКТИНА III ТИПА

ОПИСАНИЕ

Ссылка на родственную заявку

В соответствии с настоящей заявкой испрашивается приоритет согласно предварительной заявке на выдачу патента США № 61/968181, под названием «Новые связывающие сывороточный альбумин домены фибронектина III типа (Novel Serum Albumin-Binding Fibronectin Type III Domains)», поданной 20 марта 2014 года, содержимое которой, таким образом, включено в настоящее описание с помощью ссылки во всей его полноте.

Уровень техники

Неудовлетворительные периоды полужизни терапевтических средств часто делают необходимым их введение с высокой частотой и/или с более высокими дозами или применение составов с замедленным высвобождением для того, чтобы сохранить уровни в сыворотке, необходимые для достижения терапевтических эффектов. Кроме того, это часто связано с отрицательными побочными эффектами. Например, частые систематические введения инъекцией обеспечивают существенный дискомфорт субъекту, и подвергают высокому риску связанного с введением инфицирования, и могут предусматривать госпитализацию или частые визиты в больницу, в частности при необходимости внутривенного введения терапевтического средства. Кроме того, при долгосрочных схемах лечения ежедневные внутривенные введения инъекцией также могут приводить к существенным побочным эффектам в виде рубцевания ткани и патологии сосудов, вызванным периодическим прокалыванием сосудов. Схожие проблемы известны для всех частых системных введений терапевтических средств, таких как, например, введение инсулина больному сахарным диабетом или лекарственных средств на основе интерферона пациентам, страдающим рассеянным склерозом. Все эти факторы приводят к понижению у пациента согласия соблюдать режим и повышению затрат для системы здравоохранения.

В настоящей заявке предложены соединения, которые повышают период полужизни в сыворотке различных терапевтических средств, соединения с повышенным периодом полужизни в сыворотке и способы повышения у терапевтических средств периода их полужизни в сыворотке. Такие соединения и способы повышения у терапевтических средств периода их полужизни в сыворотке могут быть реализованы рентабельным путем, могут сохранять необходимые биофизические свойства (например, T_m , практически мономерное состояние или правильную укладку) и обладать достаточно малым размером для обеспечения их проникновения в ткань.

Краткое раскрытие настоящего изобретения

Настоящее изобретение основано, по меньшей мере частично, на открытии новых аднектинов (аднектинов РКЕ2), содержащих десятый домен фибронектина III типа ($^{10}\text{Fn3}$), связывающегося с сывороточным альбумином за счет петли «южного полюса», которые обеспечивают улучшенные свойства относительно аднектинов, содержащих $^{10}\text{Fn3}$ домен, связывающий сывороточный альбумин за счет петли «северного полюса».

В соответствии с одним аспектом настоящее изобретение относится к полипептиду, содержащему $^{10}\text{Fn3}$ домен, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит а) петли АВ, ВС, CD, DE, EF и FG, b) петлю CD с измененной аминокислотной последовательностью по отношению к последовательности соответствующей петле CD человеческого $^{10}\text{Fn3}$ домена, и c) причем полипептид связывается с сывороточным альбумином человека с K_D менее 500 нМ.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления $^{10}\text{Fn3}$ домен дополнительно связывается с одним или несколькими из сывороточного альбумина макака-резуса, сывороточного альбумина яванского макака, сывороточного альбумина мыши и сывороточного альбумина крысы. Например, $^{10}\text{Fn3}$ домен может связываться с HSA, сывороточным альбумином макака-резус и сывороточным альбумином яванского макака, или $^{10}\text{Fn3}$ домен может связываться с HSA, сывороточным альбумином макака-резус, сывороточным альбумином яванского макака, сывороточным альбумином мыши и сывороточным альбумином крысы. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления $^{10}\text{Fn3}$ домен связывается с соответствующим сывороточным альбумином с K_D менее 500 нМ, например, с K_D менее 100 нМ или даже K_D менее 10 нМ. В соответствии

с некоторыми вариантами осуществления $^{10}\text{Fn3}$ домен связывается с сывороточным альбумином в диапазоне pH от 5,5 до 7,4.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления $^{10}\text{Fn3}$ домен связывается с доменом I-II HSA.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке полипептида, содержащего $^{10}\text{Fn3}$ домен, в присутствии сывороточного альбумина человека составляет по меньшей мере 10 часов, как, например, по меньшей мере 20 часов или по меньшей мере 30 часов.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления петля CD содержит аминокислотную последовательность, соответствующую формуле G-X₁-X₂-V-X₃-X₄-X₅-S-X₆-X₇-G-X₈-X₉-Y-X₁₀-X₁₁-X₁₂-E (SEQ ID NO: 170), где

- (a) X₁ выбран из группы, состоящей из R или W;
- (b) X₂ выбран из группы, состоящей из H, E, D, Y или Q;
- (c) X₃ выбран из группы, состоящей из Q или H;
- (d) X₄ выбран из группы, состоящей из I, K, M, Q, L или V;
- (e) X₅ выбран из группы, состоящей из Y, F или N;
- (f) X₆ выбран из группы, состоящей из D, V или E;
- (g) X₇ выбран из группы, состоящей из L, W или F;
- (h) X₈ выбран из группы, состоящей из P или T;
- (i) X₉ выбран из группы, состоящей из L или M;
- (j) X₁₀ выбран из группы, состоящей из I или V;
- (k) X₁₁ выбран из группы, состоящей из Y или F; и
- (l) X₁₂ выбран из группы, состоящей из T, S, Q, N или A.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления (a) X₁ представляет собой R; (b) X₂ представляет собой E; (c) X₃ представляет собой Q; (d) X₄ представляет собой K; (e) X₅ представляет собой Y; (f) X₆ представляет собой D; (g) X₇ представляет собой L или W; (h) X₈ представляет собой P; (i) X₉ представляет собой L; (j) X₁₀ представляет собой I; (k) X₁₁ представляет собой Y; и (l) X₁₂ представляет собой Q или N.

В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления (a) X₁ представляет собой R; (b) X₂ представляет собой E; (c) X₃ представляет собой Q; (d) X₄ представляет собой K; (e) X₅ представляет собой Y; (f) X₆ представляет собой D; (g) X₇

представляет собой L; (h) X₈ представляет собой P; (i) X₉ представляет собой L; (j) X₁₀ представляет собой I; (k) X₁₁ представляет собой Y; и (l) X₁₂ представляет собой Q.

В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления (a) X₁ представляет собой R; (b) X₂ представляет собой E; (c) X₃ представляет собой Q; (d) X₄ представляет собой K; (e) X₅ представляет собой Y; (f) X₆ представляет собой D; (g) X₇ представляет собой W; (h) X₈ представляет собой P; (i) X₉ представляет собой L; (j) X₁₀ представляет собой I; (k) X₁₁ представляет собой Y; и (l) X₁₂ представляет собой N.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления петля CD содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-125. В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления петля CD содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 106 или 113.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления настоящее изобретение относится к полипептиду, содержащему ¹⁰Fn3 домен, содержащий (i) петлю CD, содержащую аминокислотную последовательность, имеющую консенсусную последовательность SEQ ID NO: 170, или аминокислотную последовательность под любой одной из SEQ ID NO: 101-125, и (ii) аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична отличным от петли CD участкам под SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260 или которая отличается от одной из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260 не более чем на 1, 1-2, 1-5, 1-10 или 1-20 аминокислот. В соответствии с конкретными вариантами осуществления полипептид содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260 или которая отличается от одной из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260 не более чем на 1, 1-2, 1-5, 1-10 или 1-20 аминокислот. Аминокислотные отличия могут представлять собой замены, присоединения или делеции.

В соответствии с конкретными аспектами настоящее изобретение относится к гибриднему полипептиду, содержащему десятый домен фибронектина III типа (¹⁰Fn3) и гетерологичный белок, причем ¹⁰Fn3 домен содержит а) петли AB, BC, CD, DE, EF и FG, b) петлю CD с измененной аминокислотной последовательностью по отношению к последовательности соответствующей петли человеческого ¹⁰Fn3 домена, и c) причем полипептид связывается с сывороточным альбумином человека с K_D менее 500 нМ.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления гибридный полипептид содержит связывающий альбумин аднектин, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260 или которая отличается от одной из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260 не более чем на 1, 1-2, 1-5, 1-10 или 1-20 аминокислот. В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления гибридный полипептид содержит связывающий альбумин аднектин, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, 81, 190 или 241. В соответствии с еще другим предпочтительным вариантом осуществления гибридный полипептид содержит связывающий альбумин аднектин, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, 88, 197 или 248.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления гибридный полипептид содержит связывающий альбумин аднектин и гетерологичный фрагмент, причем гетерологичный фрагмент представляет собой терапевтический фрагмент.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления гетерологичный белок представляет собой полипептид, содержащий ¹⁰Fn3 домен. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления ¹⁰Fn3 домен связывается с отличным от сывороточного альбумина целевым белком. В соответствии с одним вариантом осуществления ¹⁰Fn3 домен связывается с PCSK9 (т. е. аднектином PCSK9) и содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 167 или которая отличается от SEQ ID NO: 167 не более чем на 1, 1-2, 1-5, 1-10 или 1-20 аминокислот.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления гибридный полипептид представляет собой tandemный аднектин PCSK9-PKE2, содержащий аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 168, 169 или 261 или которая отличается от одной из SEQ ID NO: 168, 169 или 261 не более чем на 1, 1-2, 1-5, 1-10 или 1-20 аминокислот (и может содержать или не содержать N-концевой метионин).

В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке гибридного полипептида в присутствии сывороточного альбумина мыши составляет по меньшей мере 10 часов. В соответствии с некоторыми вариантами

осуществления период полужизни в сыворотке гибридного полипептида в присутствии сывороточного альбумина яванского макака составляет по меньшей мере 50 часов. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке гибридного полипептида в присутствии сывороточного альбумина мыши или сывороточного альбумина яванского макака составляет 10-100 часов, как, например, 10-90 часов, 10-80 часов, 10-70 часов, 10-60 часов, 10-50 часов, 10-40 часов, 10-30 часов, 10-20 часов, 50-100 часов, 60-100 часов, 70-100 часов, 80-100 часов, 90-100 часов, 20-90 часов, 30-80 часов, 40-70 часов или 50-60 часов.

В соответствии с конкретными аспектами настоящее изобретение относится к аднектину PKE2 или тандемному аднектину PCSK9-PKE2, содержащему аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23-100, 168, 169, 184-209, 235-260 и 261.

В соответствии с конкретными аспектами настоящее изобретение относится к композиции, содержащей любой из связывающих альбумин аднектинов или гибридных белков, включая такие, которые описаны в настоящем документе, и носитель.

В соответствии с конкретными аспектами настоящее изобретение относится к выделенной молекуле нуклеиновой кислоты, кодирующей любой из связывающих альбумин аднектинов или гибридных белков, включая такие, которые описаны в настоящем документе, например, такие, которые изложены в SEQ ID NO: 126-151 и 172, к векторам экспрессии, кодирующим молекулы нуклеиновой кислоты, и к клеткам, содержащим такие молекулы нуклеиновой кислоты. Также настоящее изобретение относится к нуклеиновым кислотам, содержащим нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% идентична любой из таких нуклеотидных последовательностей, которые описаны в настоящем документе или которые отличаются от них не более чем на 1-5, 1-10, 1-50 или 1-100 нуклеотидов.

В соответствии с конкретными аспектами настоящее изобретение относится к способу получения связывающих альбумин аднектинов или гибридных белков, в том числе таких, которые описаны в настоящем документе, предусматривающему культивирование клетки, содержащей молекулы нуклеиновой кислоты, которые их кодируют, в условиях, подходящих для экспрессии аднектинов или гибридных белков, и их очистку.

Краткое описание чертежей

На **фиг. 1** показана блок-схема конкурентного анализа alpha-screen, описываемого в разделе Пример 6.

Фиг. 2 представляет собой график, отображающий конкуренцию различных аднектинов с человеческим рецептором FcRn за связывание с сывороточным альбумином человека (HSA).

Фиг. 3 представляет собой график, отображающий период полужизни в плазме аднектинов PKE2 2629_E06 и 2630_D02 у мышей WT.

Фиг. 4 представляет собой график, отображающий результаты Т-клеточной пролиферации для процента антигенности и эффективности пролиферативных реакций на аднектины 2629_E06 и 2630_D02 и исходную молекулу 2270_C01.

На **фиг. 5** проиллюстрировано сравнение модульности tandemных аднектинов. Аднектин 1318_H04 соответствует аднектину, связывающему сывороточный альбумин за счет петли «северного полюса». «X» относится к конфигурации специфичного к отличной от PKE цели аднектина (т. е. миостатину; «myo» или PCSK9). В нижней секции указана легенда для оттенков серого в каждом прямоугольном поле, которые соответствуют соотношениям tandem:моноаднектин для EC₅₀ связывания HSA, по результатам определения при помощи ИФА с непосредственным связыванием (т. е. чем темнее оттенок серого, тем сильнее связывание с HSA).

На **фиг. 6** показаны сенсограммы интерферометрии биослоя tandemных аднектинов PCSK9-PKE2, связывающихся с hPCSK9, в присутствии или в отсутствии HSA.

Фиг. 7 представляет собой сенсограмму Biacore, на которой видно связывание tandemного аднектина PCSK9-PKE2 4472_C06 сначала с HSA, а затем с PCSK9 после введения инъекцией соответствующих белков.

Фиг. 8 представляет собой график, на котором изображен PK профиль *in vivo* tandemного аднектина PCSK9-PKE2 4772_C06 у мышей C57 Bl/6 дикого типа.

На **фиг. 9** показаны уровни свободного PCSK9 после введения дозы наполнителя или аднектина PCSK9-PKE2 4472_C06 в количестве 0,5 мг/кг или 2 мг/кг у трансгенных мышей hPCSK9.

Фиг. 10 представляет собой график, на котором изображены РК профили и периоды полужизни в плазме аднектина PKE2 2629_E06, аднектина 5190_E01, представляющего собой тандем PCSK9-PKE2, и пэгилированного PCSK9 у яванских макаков.

Фиг. 11 представляет собой график, на котором изображен период полужизни в плазме аднектина PKE2 2270_C01 у яванских макаков.

Фиг. 12 представляет собой график, на котором показан фармакодинамический профиль LDL-с и PCSK9 у яванских макаков после введения тандемного аднектина PCSK9-PKE2 5190_E01 яванским макакам. На профиле видно сильное понижение LDL-с, ингибирование свободного PCSK9 и повышение общего PCSK9, при этом все они возвращаются на исходный уровень к концу исследования.

Фиг. 13 представляет собой график, на котором изображены понижающие LDL-с эффекты аднектина 5190_E01, представляющего собой тандем PCSK9-PKE2, и препарата сравнения, представляющего собой пэгилированный аднектин PCSK9, наряду с контрольным 2629_E06 PKE2 у яванских макаков.

На **фиг. 14** показано захват цели тандемным аднектином PCSK9-PKE2 в двух различных концентрациях по сравнению с пэгилированным аднектином PCSK9 и аднектином PKE2 2629_E06 у яванских макаков.

На **фиг. 15** показаны общие уровни PCSK9 с течением времени у яванских макаков после введения тандемного аднектина PCSK9-PKE2, пэгилированного аднектина PCSK9 или аднектина PKE2 2629_E06.

Фиг. 16 представляет собой график, на котором изображены результаты Т-клеточной пролиферации в виде процента и эффективности пролиферативных реакций на тандемные аднектины PCSK9-PKE2 4472_F08, 4472_E06 и 4472_C06, а также входящий в состав аднектин PKE2 2629_E06 и входящий в состав аднектин PCSK9 2382_D09. Столбцы на левом краю графика относятся к контрольным белкам с низкой, средней и высокой антигенностью.

На **фиг. 17** показаны аминокислотные последовательности описываемых в настоящем документе аднектинов PKE2.

На **фиг. 18A-18C** показаны нуклеотидные последовательности описываемых в настоящем документе аднектинов PKE2 и тандемных аднектинов PCSK9-PKE2.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Определения

Если не указано иное, все применяемые в настоящем документе технические и научные термины имеют такое же значение, которое обычно понимается специалистом в настоящей области. Хотя при практическом осуществлении или тестировании настоящего изобретения можно применять любые способы и композиции, сходные или эквивалентные описанным в настоящем документе, в настоящем документе описаны предпочтительные способы и композиции.

В контексте настоящего описания «полипептид» относится к любой последовательности из двух или более аминокислот, независимо от длины, посттрансляционной модификации или функции. В настоящем документе «полипептид», «пептид» и «белок» применяют взаимозаменяемо. Полипептиды могут включать встречающиеся в природе аминокислоты и не встречающиеся в природе аминокислоты, таких как описанные в патенте США № 6559126, который включен в настоящий документ при помощи ссылки. Полипептиды также можно модифицировать при помощи любого из ряда стандартных химических способов (например, аминокислоту можно модифицировать защитной группой; карбокси-концевую аминокислоту можно превратить в концевую амидную группу; амино концевой остаток можно модифицировать при помощи групп, например, для усиления липофильности; или полипептид можно химически гликозилировать или иначе модифицировать для повышения стабильности или периода полужизни *in vivo*). Полипептидные модификации могут включать присоединение другой структуры, такой как циклическое соединение или другая молекула, к полипептиду, а также могут включать полипептиды, которые содержат одну или несколько аминокислот в измененной конфигурации (т. е. R или S; или L или D).

В контексте настоящего описания «полипептидная цепь» относится к полипептиду, в котором каждый из его доменов присоединен к другому домену(доменам) при помощи пептидной связи(связей), а не нековалентных взаимодействий или дисульфидных связей.

«Выделенный» полипептид является полипептидом, который выявлен и отделен и/или выделен от компонента его естественной окружающей среды. Посторонние компоненты его естественной окружающей среды представляют собой материалы, которые могут препятствовать диагностическим или терапевтическим применениям полипептида и могут

включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные компоненты. В соответствии с предпочтительными вариантами осуществления полипептид будет очищен (1) до более 95% по массе полипептида, по результатам определения при помощи способа Лоури и наиболее предпочтительно до более 99% по массе, (2) до степени, достаточной для получения по меньшей мере остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности с помощью секвенатора с вращающимся стаканом, или (3) до однородности при помощи SDS-PAGE в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с применением красителя Кумасси синего или, предпочтительно, серебрянки. Выделенный полипептид включает полипептид *in situ* в рекомбинантных клетках, так как по меньшей мере один компонент естественной окружающей среды полипептида не будет присутствовать. Тем не менее, обычно выделенный полипептид будет получен по меньшей мере за одну стадию очистки.

В контексте настоящего описания «участок» $^{10}\text{Fn3}$ домена относится к любой петле (AB, BC, CD, DE, EF и FG), β -цепи (A, B, C, D, E, F и G), N-концу (соответствующему аминокислотным остаткам 1-7 из SEQ ID NO: 1) или C-концу (соответствующему аминокислотными остаткам 93-94 из SEQ ID NO: 1) человеческого $^{10}\text{Fn3}$ домена.

«Петля "северного полюса"» относится к любой одной из петель BC, DE и FG десятого фибронектинового домена 3 типа ($^{10}\text{Fn3}$) фибронектина человека.

«Петля "южного полюса"» относится к любой одной из петель AB, CD и EF десятого фибронектинового домена 3 типа ($^{10}\text{Fn3}$) фибронектина человека.

«Каркасный участок» относится к любому непетлевому участку человеческого $^{10}\text{Fn3}$ домена. Каркасный участок включает β -цепи A, B, C, D, E, F и G, а также N-концевой участок (аминокислоты, соответствующие остаткам 1-8 из SEQ ID NO: 1) и C-концевой участок (аминокислоты, соответствующие остаткам 93-94 из SEQ ID NO: 1 и необязательно содержащие 7 аминокислот, составляющий естественный линкер между 10-м и 11-м повтором Fn3 домена в фибронектине человека).

«Процент (%) идентичности аминокислотных последовательностей» в настоящем документе определяют как процент аминокислотных остатков в потенциальной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам в выбранной последовательности после выравнивания последовательностей и внесения гэпов, в случае необходимости, до достижения максимального процента идентичности

последовательностей и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательностей. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотных последовательностей можно выполнить различными способами, которые известны специалисту в настоящей области, например, при помощи общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 или Megalign (DNASTAR). Специалисты в настоящей области могут определить соответствующие параметры для оценки выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для осуществления максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. Применительно к настоящему описанию, однако, значения % идентичности аминокислотных последовательностей получают как описано ниже при помощи компьютерной программы для сравнения последовательностей ALIGN-2. Компьютерная программа для сравнения последовательностей ALIGN-2 была написана Genentech, Inc. подана с документацией пользователя в Бюро регистрации авторских прав США, город Вашингтон, округ Колумбия, 20559, где она зарегистрирована под № TXU510087 регистрации авторского права, и является общедоступной от Genentech, Inc., Южный Сан-Франциско, Калифорния. Программу ALIGN-2 необходимо скомпилировать для применения на операционной системе UNIX, предпочтительно цифровой UNIX V4.0D. Все параметры сравнения последовательностей выставлены программой ALIGN-2 и являются неизменными.

Применительно к настоящему описанию, % идентичности аминокислотных последовательностей заданной аминокислотной последовательности А к, с, или относительно заданной аминокислотной последовательности В (что альтернативно можно перефразировать как заданная аминокислотная последовательность А, которая имеет или содержит конкретный % идентичности аминокислотной последовательности к, с или относительно заданной аминокислотной последовательности В) рассчитывают следующим образом: $100 \times \frac{X}{Y}$, где X представляет собой число аминокислотных остатков, оцененных как идентичные соответствия программой для выравнивания последовательностей ALIGN-2 в таком программном выравнивании А и В, и где Y представляет собой общее число аминокислотных остатков в В. Следует понимать, что если длина аминокислотной последовательности А не равна длине аминокислотной

последовательности В, то % идентичности аминокислотной последовательности А к В не будет равен % идентичности аминокислотной последовательности В к А.

Термины «специфически связывается», «специфичное связывание», «селективное связывание» и «селективно связывается», применяемые в контексте настоящего описания взаимозаменяемо, относятся к аднектину, который характеризуется аффинностью к сывороточный альбумин, но практически не связывается (например, менее приблизительно 10% связывание) с отличным полипептидом, что оценивают при помощи доступной в настоящей области методики, такой как без ограничения анализ Скэтчарда и/или анализы конкурентного связывания (например, конкурентный ИФА, анализ BIACORE). Этот термин также применим, например, если связывающий домен аднектина по настоящему изобретению является специфичным к сывороточному альбумину.

«Период полужизни» полипептида обычно можно определить как фактическое время до уменьшения концентрации в сыворотке полипептида на 50%, *in vivo*, например, в связи с разрушением и/или выведением из организма полипептида или секвестрации полипептида при помощи естественных механизмов. Период полужизни можно определить по сути любым известным способом, например, при помощи фармакокинетического анализа. Подходящие методики будут очевидны специалисту в настоящей области и, в целом, могут, например, предусматривать стадии введения подходящей дозы полипептида примату; забора образцов крови или других образцов от указанного примата через равные промежутки времени; определения уровня или концентрации полипептида в указанном образце крови; и вычисления по полученным таким образом (представленным графически) данным времени до уменьшения уровня или концентрации полипептида на 50% по сравнению с исходным уровнем после введения дозы. Способы определения периода полужизни можно найти, например, в работе Kenneth et al., *Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists* (1986); Peters et al, *Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach* (1996); и "Pharmacokinetics", M Gibaldi & D Perron, published by Marcel Dekker, 2nd Rev. edition (1982).

Период полужизни можно выразить при помощи параметров, таких как $t_{1/2}$ -альфа, $t_{1/2}$ -бета и площадь под кривой (AUC). В соответствии с настоящим описанием «повышение периода полужизни» относится к повышению любого одного из таких параметров, любых двух из таких параметров или всех трех таких параметров. В соответствии с конкретными

вариантами осуществления повышение периода полужизни относится к повышению $t_{1/2}$ -бета, независимо с повышением, или без него, $t_{1/2}$ -альфа и/или AUC или как первого, так и второго.

Термин « K_D » в контексте настоящего описания предназначен для обозначения равновесной константы диссоциации конкретного взаимодействия аднектин-белок или аффинности аднектина к белку (например, сывороточному альбумину), по результатам измерения при помощи анализа поверхностного плазмонного резонанса или анализа связывания клеток. В контексте настоящего описания «необходимая K_D » относится к K_D аднектина, которая является достаточной для предполагаемых целей. Например, необходимая K_D может относиться к K_D аднектина, необходимой для достижения функционального эффекта в анализе *in vitro*, например, клеточном люциферазном анализе.

В контексте настоящего описания термин « k_{ass} » предназначен для обозначения константы скорости ассоциации для ассоциации аднектина в комплекс аднектин/белок.

В контексте настоящего описания термин « k_{diss} » предназначен для обозначения константы скорости диссоциации для диссоциации аднектина из комплекса аднектин/белок.

В контексте настоящего описания термин « IC_{50} » относится к концентрации аднектина, которая ингибирует реакцию, либо в анализе *in vitro*, либо в анализе *in vivo*, до уровня, который составляет 50% от максимальной ингибирующей реакции, т. е. посередине от максимальной ингибирующей реакции и реакции при отсутствии обработки.

Термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству лекарственного средства, эффективному для лечения заболевания или нарушения у млекопитающего и/или ослабления до некоторой степени одного или нескольких связанных с нарушением симптомов.

Применяемое в контексте настоящего описания «предупреждение» заболевания или нарушения относится к уменьшению вероятности появления болезненного состояния в статистической выборке по отношению к контрольной выборке без обработки, или к задержке начала или уменьшению тяжести одного или нескольких симптомов заболевания или нарушения по отношению к контрольной выборке. Для превентивной терапии пациентов можно выбирать на основании факторов, которые известны как повышающие риск возникновения клинического болезненного состояния относительно общей популяции. В контексте настоящего описания термин «лечение» включает (а) ингибирование

болезненного состояния, т. е. остановку его развития; и/или (b) облегчение болезненного состояния, т. е. достижение регрессии болезненного состояния после его выявления.

Общий обзор

Новые описываемые в настоящем документе фибронектиновые каркасные полипептиды связываются с сывороточным альбумином различных видов и могут соединяться с дополнительной молекулой(молекулами), такой как другие $^{10}\text{Fn3}$ домены, которые связываются с другими целями, или полипептиды, для которых повышенный период полужизни является благоприятным.

А. Общая структура фибронектиновых каркасов

Fn3 относится к домену III типа из фибронектина. Fn3 домен является малым, мономерным, растворимым и стабильным. Он не имеет дисульфидных связей и поэтому стабилен в восстанавливающих условиях. Общая структура Fn3 напоминает укладку цепи иммуноглобулинов. Fn3 домены содержат, в порядке от N-конца к C-концу, бета или бета-подобную цепь A; петлю AB; бета или бета-подобную цепь B; петлю BC; бета или бета-подобную цепь C; петлю CD; бета или бета-подобную цепь D; петлю DE; бета или бета-подобную цепь E; петлю EF; бета или бета-подобную цепь F; петлю FG; и бета или бета-подобную цепь G. Семь антипараллельных β -цепей сгруппированы в виде двух бета-листов, которые формируют стабильную сердцевину, при этом создавая две «поверхности», которые сформированы из петель, соединяющих бета или бета-подобные цепи. Петли AB, CD и EF расположены на одной поверхности («южный полюс»), а петли BC, DE и FG расположены на противоположной поверхности («северный полюс»). Любые или все петли AB, BC, CD, DE, EF и FG могут принимать участие в связывании лигандов. В фибронектине человека есть по меньшей мере 15 различных Fn3 модулей, и поскольку гомология последовательностей между модулями низка, то они все имеют высокое сходство в третичной структуре.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления Fn3 домен представляет собой Fn3 домен, полученный из десятого модуля дикого типа домена фибронектина человека III типа ($^{10}\text{Fn3}$):

VSDVPRDLEVVAATPTSELLISWDAPAVTVRYRITYGETGGNSPVQEFTVPGSKST
ATISGLKPGVDYTTITVYAVTGRGDSPASSKPI SINYRT (SEQ ID NO: 1) (петли AB, CD и
EF подчеркнуты).

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления нелигандные связывающие последовательности $^{10}\text{Fn3}$, т. е. «каркас $^{10}\text{Fn3}$ », могут быть изменены при условии, что $^{10}\text{Fn3}$ сохраняет функцию связывания лиганда и/или структурную стабильность. Сообщалось о различных мутантных каркасах $^{10}\text{Fn3}$. В соответствии с одним аспектом один или несколько из Asp 7, Glu 9 и Asp 23 заменены на другую аминокислоту, такую как, например, не имеющий отрицательный заряд аминокислотный остаток (например, Asn, Lys и т. п.). Сообщалось, что такие мутации оказывают эффект, способствующий большей стабильности мутантного $^{10}\text{Fn3}$ при нейтральном pH по сравнению с формой дикого типа (см., например, публикацию патентной заявки РСТ № WO 02/04523). Было раскрыто множество дополнительных изменений в каркасе $^{10}\text{Fn3}$, которые являются либо благоприятными, либо нейтральными. См., например, работу Batori et al., Protein Eng., 15(12):1015-1020 (December 2002); Koide et al., Biochemistry, 40(34):10326-10333 (Aug. 28, 2001).

Оба варианта белков $^{10}\text{Fn3}$ дикого типа характеризуются сходной структурой, а именно семью бета-цепочечными последовательностями домена, которые обозначены А-Г, и шестью петлевыми участками (петля АВ, петля ВС, петля CD, петля DE, петля EF и петля FG), которые связывают семь бета-цепочечных последовательностей домена. Бета-цепи, расположенные наиболее близко к N- и C-концам, могут принимать бета-подобную конформацию в растворе. В SEQ ID NO: 1 петля АВ соответствует остаткам 14-17, петля ВС соответствует остаткам 23-31, петля CD соответствует остаткам 37-47, петля DE соответствует остаткам 51-56, петля EF соответствует остаткам 63-67, и петля FG соответствует остаткам 76-87.

Таким образом, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления связывающий сывороточный альбумин аднектин по настоящему изобретению представляет собой $^{10}\text{Fn3}$ полипептид, который по меньшей мере на 40%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% или 90% идентичен человеческому $^{10}\text{Fn3}$ домену, показанному под SEQ ID NO: 1. Основная часть изменчивости обычно будет иметь место в одной или нескольких петлях. Каждая из бета- или бета-подобных цепей $^{10}\text{Fn3}$ полипептида может фактически состоять из

аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична последовательности соответствующей бета или бета-подобной цепи с SEQ ID NO: 1 при условии, что такая вариация не нарушает стабильность полипептида в физиологических условиях.

Дополнительно, также можно создать вставки и делеции в петлевых участках, при этом все еще получая высокую аффинность связывания в сыворотке у связывающих $^{10}\text{Fn3}$ доменов. Таким образом, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления одна или несколько петель, выбранных из AB, BC, CD, DE, EF и FG, могут быть удлинены или укорочены относительно соответствующей петли в человеческом $^{10}\text{Fn3}$ дикого типа. В любом заданном полипептиде одна или несколько петель могут быть удлинены, одна или несколько петель могут быть укорочены или иметь их комбинацию. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления длина заданной петли может быть увеличена на 2-25, 2-20, 2-15, 2-10, 2-5, 5-25, 5-20, 5-15, 5-10, 10-25, 10-20 или 10-15 аминокислот. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления длина данной петли может быть уменьшена на 1-15, 1-11, 1-10, 1-5, 1-3, 1-2, 2-10 или 2-5 аминокислот.

Как описано выше, аминокислотные остатки, соответствующие остаткам 14-17, 23-30, 37-47, 51-56, 63-67 и 76-87 из SEQ ID NO: 1, определяют соответственно петли AB, BC, CD, DE, EF и FG. Однако, следует понимать, что не каждое основание в петлевом участке нуждается в модификации для получения связывающего $^{10}\text{Fn3}$ домена, обладающего сильной аффинностью к необходимой цели. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления только остатки в петле, например петле CD, модифицируют для получения $^{10}\text{Fn3}$ доменов, связывающихся с целью с высокой аффинностью.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящее изобретение относится к полипептидам, содержащим $^{10}\text{Fn3}$ домен, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит петли AB, BC, CD, DE и FG и имеет по меньшей мере одну петлю, выбранную из петель AB, CD и EF, с измененной аминокислотной последовательностью относительно последовательности соответствующей петли человеческого $^{10}\text{Fn3}$ домена с SEQ ID NO: 1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления петли изменены AB, CD и EF. В соответствии с конкретными вариантами осуществления изменена только петля AB. В соответствии с конкретными вариантами осуществления изменена только петля CD. В соответствии с конкретными вариантами осуществления изменена только петля EF. В

соответствии с конкретными вариантами осуществления изменены как петля АВ, так и петля CD. В соответствии с конкретными вариантами осуществления изменены как петля АВ, так и петля EF. В соответствии с конкретными вариантами осуществления изменены как петля CD, так и петля EF. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления одно или несколько конкретных каркасных изменений объединены в комбинации с одним или несколькими петлевыми изменениями. Под «измененный» понимают одно или несколько изменений в аминокислотной последовательности относительно матричной последовательности (т. е. соответствующего домена дикого типа фибронектина человека) и включает аминокислотные дополнения, делеции и замены.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления каркасный фибронектиновый белок содержит ¹⁰Fn3 домен, имеющий комбинацию из изменений петель «северного» и «южного полюса». Например, одна или несколько петель АВ, CD и EF в комбинации с одной или несколькими из петель ВС, DE и FG могут быть изменены относительно соответствующих петель человеческого ¹⁰Fn3 домена с SEQ ID NO: 1.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления полипептид содержит ¹⁰Fn3 домен, который содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% идентичную непетлевым участкам и/или немодифицированным петлевым участкам SEQ ID NO: 1, причем изменена по меньшей мере одна петля, выбранная из АВ, CD и EF. Например, в соответствии с конкретными вариантами осуществления петля АВ может иметь до 4 аминокислотных замен, до 10 аминокислотных вставок, до 3 аминокислотных делеций или их комбинации; петля CD может иметь до 6 аминокислотных замен, до 10 аминокислотных вставок, до 4 аминокислотных делеций или их комбинации; и петля EF может иметь до 5 аминокислотных замен, до 10 аминокислотных вставок, до 3 аминокислотных делеций или их комбинации; и/или петля FG может иметь до 12 аминокислотных замен, до 11 аминокислотных делеций, до 25 аминокислотных вставок или их комбинации.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления один или несколько остатков интегрин-связывающего мотива «аргинин-глицин-аспарагиновая кислота» (RGD) (аминокислоты 78-80 из SEQ ID NO: 1) могут быть заменены так, чтобы нарушить связывание с интегрином. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления петля FG полипептидов, описываемых в настоящем документе, не содержит связывающий

интегрин сайт RGD. В соответствии с одним вариантом осуществления последовательность RGD заменена на последовательность полярная аминокислота - нейтральная аминокислота - кислая аминокислота (в направлении от N-конца до C-конца). В соответствии с конкретными вариантами осуществления последовательность RGD заменена на SGE. В соответствии с еще одними вариантами осуществления последовательность RGD заменена на RGE.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления каркасный фибронектиновый белок содержит ¹⁰Fn3 домен, который обычно определен следующей последовательностью:

VSDVPRDLEVVA(A)_uLLISW(X)_vYRITY(X)_wFTV(X)_xATISGL(X)_yYTTTVYA(X)_zISI
NYRT (SEQ ID NO: 2)

В SEQ ID NO: 2 петля AB представлена (X)_u, петля BC представлена (X)_v, петля CD представлена (X)_w, петля DE представлена (X)_x, петля EF представлена (X)_y и петля FG представлена X_z. X представляет собой любую аминокислоту, а нижний индекс после X представляет собой целое число аминокислот. В частности, каждый из u, v, w, x, y и z может независимо представлять собой любое число в диапазоне 2-20, 2-15, 2-10, 2-8, 5-20, 5-15, 5-10, 5-8, 6-20, 6-15, 6-10, 6-8, 2-7, 5-7 или 6-7 аминокислот. Последовательности бета-цепей (подчеркнутые) могут иметь любое число из 0-10, 0-8, 0-6, 0-5, 0-4, 0-3, 0-2 или 0-1 замен, делеций или дополнений во всех 7 каркасных участках относительно соответствующих аминокислот, показанных в SEQ ID NO: 2. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления последовательности бета-цепей могут иметь любое число из 0-10, 0-8, 0-6, 0-5, 0-4, 0-3, 0-2 или 0-1 консервативных замен во всех 7 каркасных участках относительно соответствующих аминокислот, показанных в SEQ ID NO: 2. В соответствии с конкретными вариантами осуществления гидрофобные сердцевинные аминокислотные остатки (выделенные жирным остатками в описанной выше SEQ ID NO: 2) являются фиксированными, и любые замены, консервативные замены, делеции или дополнения происходят в остатках, отличных от гидрофобных сердцевинных аминокислотных остатков. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления гидрофобные сердцевинные остатки полипептидов, описываемых в настоящем документе, не модифицированы относительно человеческого ¹⁰Fn3 домена дикого типа (SEQ ID NO: 1).

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления аминокислотные последовательности N-концевых и/или C-концевых участков полипептидов, описываемых в настоящем документе, могут быть модифицированы делецией, заменой или вставкой относительно аминокислотных последовательностей соответствующих участков человеческого ¹⁰Fn3 домена дикого типа (SEQ ID NO: 1). ¹⁰Fn3 домены обычно начинаются с аминокислоты номер 1 из SEQ ID NO: 1. Однако, домены с аминокислотными делециями также охватываются настоящим изобретением. Дополнительные последовательности также можно добавить к N- или C-концу ¹⁰Fn3 домена, имеющего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1. Например, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления N-концевое удлинение состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из: M, MG и G.

В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления альтернативный N-концевой участок, имеющий длину в 1-20, 1-15, 1-10, 1-8, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2 или 1 аминокислоту, можно добавить к N-концевому участку SEQ ID NO: 1. Иллюстративные альтернативные N-концевые участки включают (представленные при помощи однобуквенного аминокислотного кода) M, MG, G, MGVSDVPRDL (SEQ ID NO: 3) и GVSDVPRDL (SEQ ID NO: 4). Другие подходящие альтернативные N-концевые участки включают, например, X_nSDVPRDL (SEQ ID NO: 5), X_nDVPRDL (SEQ ID NO: 6), X_nVPRDL (SEQ ID NO: 7), X_nPRDL (SEQ ID NO: 8) X_nRDL (SEQ ID NO: 9), X_nDL (SEQ ID NO: 10) или X_nL, где n = 0, 1 или 2 аминокислоты, причем если n = 1, то X представляет собой Met или Gly, и если n = 2, то X представляет собой Met-Gly. При добавлении Met-Gly последовательности к N-концу ¹⁰Fn3 домена M обычно будет отщепляться, оставляя G на N-конце. В соответствии с конкретными вариантами осуществления альтернативный N-концевой участок содержит аминокислотную последовательность MASTSG (SEQ ID NO: 11).

В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления альтернативный C-концевой участок, имеющий длину в 1-20, 1-15, 1-10, 1-8, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2 или 1 аминокислот, можно добавить к C-концевому участку SEQ ID NO: 1. Конкретные примеры альтернативных последовательностей C-концевых участков включают, например, полипептиды, содержащие, фактически состоящие из или состоящие из EIEK (SEQ ID NO: 12), EGSGC (SEQ ID NO: 13), EIEKPCQ (SEQ ID NO: 14), EIEKPSQ (SEQ ID NO: 15), EIEKP

(SEQ ID NO: 16), EIEKPS (SEQ ID NO: 17) или EIEKPC (SEQ ID NO: 18). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления альтернативный С-концевой участок содержит EIDK (SEQ ID NO: 19), и в соответствии с конкретными вариантами осуществления альтернативный С-концевой участок представляет собой или EIDKPCQ (SEQ ID NO: 20), или EIDKPSQ (SEQ ID NO: 21). Дополнительные подходящие альтернативные С-концевые участки включают изложенные в Таблице 20 и SEQ ID NO: 210-220.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления последовательности С-концевого удлинения содержат остатки E и D остатки и могут составлять в длину от 8 до 50, от 10 до 30, от 10 до 20, от 5 до 10 и от 2 до 4 аминокислот. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления хвостовые последовательности включают ED-линкеры, в которых последовательность содержит тандемные повторы ED. В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления хвостовая последовательность содержит 2-10, 2-7, 2-5, 3-10, 3-7, 3-5, 3, 4 или 5 повторов ED. В соответствии с конкретными вариантами осуществления ED-хвостовые последовательности также могут включать дополнительные аминокислотные остатки, такие как, например, EI, EID, ES, EC, EGS и EGC. В основе таких последовательностей лежат, отчасти, известные хвостовые последовательности аднектина, такие как EIDKPSQ (SEQ ID NO: 21), в которых были удалены остатки D и K. В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления ED-хвост перед повторами ED содержит остатки E, I или EI.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления альтернативный С-концевой фрагмент, который может быть присоединен к С-концевым аминокислотам RT (т. е. аминокислотам 93-94 из SEQ ID NO: 1) любого из описываемых в настоящем документе аднектинов, содержит аминокислоты P_mX_n , где P представляет собой пролин, X является любой аминокислотой, m является целым числом, которое составляет по меньшей мере 1, и n равен 0 или представляет собой целое число, которое составляет по меньшей мере 1. В соответствии с конкретными вариантами осуществления альтернативный С-концевой фрагмент содержит аминокислоты PC. В соответствии с конкретными вариантами осуществления альтернативный С-концевой фрагмент содержит аминокислоты PI, PC, PID, PIE, PIDK (SEQ ID NO: 221), PIEK (SEQ ID NO: 222), PIDKP (SEQ ID NO: 223), PIEKP (SEQ ID NO: 224), PIDKPS (SEQ ID NO: 225), PIEKPS (SEQ ID NO: 226), PIDKPC (SEQ ID NO: 227), PIEKPC (SEQ ID NO: 228), PIDKPSQ (SEQ ID NO: 229), PIEKPSQ (SEQ ID NO: 230),

PIDKPCQ (SEQ ID NO: 231), PIEKPCQ (SEQ ID NO: 232), PНННННН (SEQ ID NO: 233) и РСНННННН (SEQ ID NO: 234).

В соответствии с конкретными вариантами осуществления фибронектиновые каркасные белки содержат $^{10}\text{Fn3}$ домен, имеющий как альтернативную последовательность N-концевого участка, так и альтернативную последовательность C-концевого участка.

В. Связывающие сывороточный альбумин молекулы, имеющие модифицированную петлю(петли) на «южном полюсе»

$^{10}\text{Fn3}$ домены быстро выводятся из кровотока посредством фильтрации и разрушения в связи с их малым размером, составляющем приблизительно 10 кДа ($t_{1/2}$ =15-45 минут у мышей; 3 часа у обезьян). В соответствии с конкретными аспектами в настоящей заявке предложены $^{10}\text{Fn3}$ домены с модификациями на «южном полюсе», которые специфично связываются с сывороточным альбумином, например, сывороточным альбумином человека (HSA), для пролонгирования $t_{1/2}$ у $^{10}\text{Fn3}$ домена.

HSA имеет концентрацию в сыворотке, составляющую 600 мкМ, и $t_{1/2}$, составляющий 19 дней у людей. Продолжительный $t_{1/2}$ HSA был отчасти объяснен за счет его рециркуляции с участием неонатального рецептора Fc (FcRn). HSA связывает FcRn в зависимости от pH после эндосомального поглощения в эндотелиальные клетки; эта взаимосвязь позволяет рециркулировать HSA обратно в кровоток, таким образом отдаляя его липосомальное разрушение. FcRn широко экспрессируется, и, согласно предположениям, рециркуляционный путь является конститутивным. В большинстве типов клеток наибольшее количество FcRn находится во внутриклеточной сортирующей эндосоме. HSA легко интернализируется при помощи неспецифического механизма пиноцитоза жидкой фазы и избегает разрушения в липосоме при помощи FcRn. При кислом pH, который имеет место в эндосоме, аффинность HSA к FcRn повышается (5 мкМ при pH 6,0). После связывания с FcRn HSA уходит с липосомного пути разрушения, подвергается транцитозу и высвобождается на поверхность клетки.

Аднектины, связывающее сывороточный альбумин за счет петли «северного полюса», называемые в настоящем документе связывающими сывороточный альбумин аднектинами «первого поколения», описаны, например, в WO2011140086. Для того чтобы усовершенствовать связывающие сывороточный альбумин за счет петли «северного

полюса» (SABA) аднектины первого поколения, среди которых некоторые не связывались с сывороточным альбумином мыши или крысы, не обладали высокой аффинностью к сывороточным альбуминам от различных видов, и не всегда были совместимы в мультивалентной платформе на основе $^{10}\text{Fn3}$, были разработаны связывающие сывороточный альбумин за счет петли «южного полюса» (аднектины PKE2) аднектины второго поколения с модифицированными петлями «южного полюса», как описано в разделе Примеры.

Таким образом, в соответствии с одним аспектом настоящее изобретение относится к $^{10}\text{Fn3}$ домену, имеющему (i) модификацию в аминокислотной последовательности по меньшей мере одной петли «южного полюса», выбранной из петель AB, CD и EF, относительно соответствующей петли человеческого $^{10}\text{Fn3}$ домена дикого типа (SEQ ID NO: 1), в которой $^{10}\text{Fn3}$ домен связывается с сывороточным альбумином (например, сывороточным альбумином человека). Модифицированная петля(петли) «южного полюса» участвует в связывании с одинаковой целью. Предусмотрены различные комбинации модифицированных петель «южного полюса». Например, $^{10}\text{Fn3}$ может содержать одну модифицированную петлю «южного полюса», две модифицированные петли «южного полюса» или даже все три модифицированные петли «южного полюса». В соответствии с конкретными вариантами осуществления одна или несколько модифицированных петель «южного полюса» можно получить в сочетании с одной или несколькими модифицированными петлями «северного полюса» (т. е. одной или несколькими из петель BC, DE и FG). Модифицированные петли могут иметь модификации последовательности на протяжении всей петли или только в части петли. В дополнение к этому, одна или несколько из модифицированных петель могут иметь такие вставки или делеции, что длина петли будет варьировать относительно длины соответствующей петли последовательности дикого типа (т. е. SEQ ID NO: 1). В соответствии с конкретными вариантами осуществления дополнительные участки в $^{10}\text{Fn3}$ домене (т. е. в дополнение к петлям «южного полюса»), такие как β -цепь, N-концевые и/или C-концевые участки, также могут быть модифицированы в последовательности относительно $^{10}\text{Fn3}$ домена дикого типа, и такие дополнительные модификации также могут участвовать в связывании с целью. В соответствии с конкретными вариантами осуществления петля «южного полюса» является единственным модифицированным доменом. В соответствии со специфическими

вариантами осуществления петля CD является единственным модифицированным доменом. В соответствии с конкретными вариантами осуществления связывающий сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ домен может быть модифицирован путем включения последовательности N-концевого удлинения и/или последовательности C-концевого удлинения, которые описано ранее.

В соответствии с одним вариантом осуществления настоящее изобретение относится к аднектинам, которые связываются с сывороточным альбумином, имеющим измененную петлю CD относительно соответствующей петли человеческого $^{10}\text{Fn3}$ домена дикого типа, например, $^{10}\text{Fn3}$ доменов, изложенных под SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления связывающие альбумин аднектины содержат или наоборот не содержат 6X на своем хвосте. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления связывающие альбумин аднектины соответствуют сердцевинным аднектинам, которые не имеют N-концевой лидерной последовательности и C-концевого хвоста, которые изложены под SEQ ID NO: 75-100.

В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления описанные в настоящем документе связывающие сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ белки связываются с сывороточным альбумином человека с K_D , составляющей менее 3 мкМ, 2,5 мкМ, 2 мкМ, 1,5 мкМ, 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ, 100 пМ, 100 пМ, 50 пМ или 10 пМ. K_D может, например, находиться в диапазоне от 0,1 нМ до 50 нМ, от 0,1 нМ до 100 нМ, от 0,1 нМ до 1 мкМ, от 0,5 нМ до 50 нМ, от 0,5 нМ до 100 нМ, от 0,5 нМ до 1 мкМ, от 1 нМ до 50 нМ, от 1 нМ до 100 нМ или от 1 нМ до 1 мкМ.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления описанные в настоящем документе связывающие альбумин аднектины (или $^{10}\text{Fn3}$ белки) также могут связывать сывороточный альбумин от одного или нескольких из яванского макака, макака-резус, крысы или мыши.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления описанные в настоящем документе связывающие сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ белки связываются с сывороточным альбумином макака-резус (RhSA) или сывороточным альбумином яванского макака (CySA) с K_D , составляющей менее 3 мкМ, 2,5 мкМ, 2 мкМ, 1,5 мкМ, 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ. K_D может, например, находиться в диапазоне от 0,1 нМ

до 50 нМ, от 0,1 нМ до 100 нМ, от 0,1 нМ до 1 мкМ, от 0,5 нМ до 50 нМ, от 0,5 нМ до 100 нМ, от 0,5 нМ до 1 мкМ, от 1 нМ до 50 нМ, от 1 нМ до 100 нМ или от 1 нМ до 1 мкМ.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления описанные в настоящем документе связывающие сывороточный альбумин ¹⁰Fn3 белки связываются с сывороточным альбумином макака-резус (RhSA), сывороточным альбумином яванского макака (CySA) и сывороточный альбумин мыши (MSA) с K_D, составляющей менее 3 мкМ, 2,5 мкМ, 2 мкМ, 1,5 мкМ, 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ. K_D может, например, находиться в диапазоне от 0,1 нМ до 50 нМ, от 0,1 нМ до 100 нМ, от 0,1 нМ до 1 мкМ, от 0,5 нМ до 50 нМ, от 0,5 нМ до 100 нМ, от 0,5 нМ до 1 мкМ, от 1 нМ до 50 нМ, от 1 нМ до 100 нМ или от 1 нМ до 1 мкМ.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления описанные в настоящем документе связывающие сывороточный альбумин ¹⁰Fn3 белки связываются с сывороточным альбумином макака-резус (RhSA), сывороточным альбумином яванского макака (CySA), сывороточным альбумином мыши (MSA) и сывороточным альбумином крысы (RSA) с K_D, составляющей менее 3 мкМ, 2,5 мкМ, 2 мкМ, 1,5 мкМ, 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ. K_D может, например, находиться в диапазоне от 0,1 нМ до 50 нМ, от 0,1 нМ до 100 нМ, от 0,1 нМ до 1 мкМ, от 0,5 нМ до 50 нМ, от 0,5 нМ до 100 нМ, от 0,5 нМ до 1 мкМ, от 1 нМ до 50 нМ, от 1 нМ до 100 нМ или от 1 нМ до 1 мкМ.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления описанные в настоящем документе связывающие альбумин аднектины связываются с сывороточным альбумином в диапазоне pH от 5,5 до 7,4.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления описанные в настоящем документе связывающие альбумин аднектины связываются с доменом I-II сывороточного альбумина человека.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке связывающих альбумин аднектинов по настоящему изобретению или период полужизни в сыворотке связывающих альбумин аднектинов, соединенных с гетерологичным фрагментом, например, вторым аднектином, составляет по меньшей мере 2 часа, 2,5 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов, 10 часов, 15 часов, 20 часов, 25 часов, 30 часов, 35 часов, 40 часов, 50 часов, 60 часов, 70 часов, 80 часов, 90 часов, 100 часов, 110 часов, 120 часов, 130 часов, 135 часов, 140 часов, 150 часов, 160 часов

или 200 часов. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке связывающих альбумин аднектинов или период полужизни в сыворотке связывающих альбумин аднектинов, соединенных с гетерологичным фрагментом, например, вторым аднектином, составляет 2-200 часов, 5-200 часов, 10-200 часов, 25-200 часов, 50-200 часов, 100-200 часов, 150-200 часов, 2-150 часов, 2-100 часов, 2-50 часов, 2-25 часов, 2-10 часов, 2-5 часов, 5-150 часов, 10-100 часов или 25-50 часов.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления связывающие альбумин аднектины содержат последовательность, которая по меньшей мере на 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80% или 85% идентична ¹⁰Fn3 домену дикого типа (SEQ ID NO: 1). В соответствии с одним вариантом осуществления по меньшей мере одна из петель АВ, CD или EF модифицирована относительно ¹⁰Fn3 домена дикого типа. В соответствии с конкретным вариантом осуществления по меньшей мере две из петель АВ, CD или EF модифицированы относительно ¹⁰Fn3 домена дикого типа. В соответствии с конкретным вариантом осуществления все три петли АВ, CD или EF модифицированы относительно ¹⁰Fn3 домена дикого типа. В соответствии с конкретными вариантами осуществления связывающий сывороточный альбумин ¹⁰Fn3 домен содержит последовательность, которая по меньшей мере на 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления связывающий сывороточный альбумин ¹⁰Fn3 домен (или аднектин) может содержать последовательность, которая изложена под SEQ ID NO: 2, где петля CD представлена (X)_w и заменена на петлю CD из любой из 26 сердцевинных последовательностей аднектина PKE2 (т. е. SEQ ID NO: 75-100). Каркасные участки таких связывающих альбумин аднектинов могут иметь любое число в диапазоне 0-20, 0-15, 0-10, 0-8, 0-6, 0-5, 0-4, 0-3, 0-2 или 0-1 замен, консервативных замен, делеций или дополнений относительно каркасных аминокислотных остатков из SEQ ID NO: 1. Такие каркасные модификации можно создавать при условии, что связывающий альбумин аднектин будет способен связывать сывороточный альбумин, например, HSA, с необходимой К_D.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления петлевой участок CD связывающих альбумин аднектинов по настоящему изобретению можно описать при помощи консенсусной последовательности.

Таким образом, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления петля CD определена консенсусной последовательностью

G-X₁-X₂-V-X₃-X₄-X₅-S-X₆-X₇-G-X₈-X₉-Y-X₁₀-X₁₁-X₁₂-E (SEQ ID NO: 170), где

- (a) X₁ выбран из группы, состоящей из R или W;
- (b) X₂ выбран из группы, состоящей из H, E, D, Y или Q;
- (c) X₃ выбран из группы, состоящей из Q или H;
- (d) X₄ выбран из группы, состоящей из I, K, M, Q, L или V;
- (e) X₅ выбран из группы, состоящей из Y, F или N;
- (f) X₆ выбран из группы, состоящей из D, V или E;
- (g) X₇ выбран из группы, состоящей из L, W или F;
- (h) X₈ выбран из группы, состоящей из P или T;
- (i) X₉ выбран из группы, состоящей из L или M;
- (j) X₁₀ выбран из группы, состоящей из I или V;
- (k) X₁₁ выбран из группы, состоящей из Y или F; и
- (l) X₁₂ выбран из группы, состоящей из T, S, Q, N или A.

В соответствии с предпочтительными вариантами осуществления

- (a) X₁ представляет собой R;
- (b) X₂ представляет собой E;
- (c) X₃ представляет собой Q;
- (d) X₄ представляет собой K;
- (e) X₅ представляет собой Y;
- (f) X₆ представляет собой D;
- (g) X₇ представляет собой L или W;
- (h) X₈ представляет собой P;
- (i) X₉ представляет собой L;
- (j) X₁₀ представляет собой I;
- (k) X₁₁ представляет собой Y; и
- (l) X₁₂ представляет собой Q или N.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления X₇ представляет собой L, а X₁₂ представляет собой Q.

В соответствии с другим предпочтительным вариантом осуществления X₇ представляет собой W, а X₁₂ представляет собой N.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления связывающие альбумин аднектины по настоящему изобретению содержат петлю CD, имеющую последовательности, по меньшей мере на 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичные последовательностям петли CD, изложенным по SEQ ID NO: 101-125, или содержат не более 1, 1-2 или 1-3 аминокислотных отличий (т. е. замену, например, делецию, добавку или консервативную замену). Каркасные участки таких связывающих альбумин аднектинов могут содержать любое число в диапазоне 0-20, 0-15, 0-10, 0-8, 0-6, 0-5, 0-4, 0-3, 0-2 или 0-1 замен, консервативных замен, делеций или дополнений относительно каркасных аминокислотных остатков из SEQ ID NO: 1. Такие каркасные модификации можно создавать при условии, что аднектины будут способны связывать сывороточный альбумин с необходимой К_D.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления петля CD связывающих альбумин аднектинов по настоящему изобретению содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

GRHVQIYSDLGPLYIYTE (SEQ ID NO: 101),
GRHVHIYSDWGPMYIYTE (SEQ ID NO: 102),
GREVQKYSVLGPLYIYTE (SEQ ID NO: 103),
GREVQMYSDLGPLYVYSE (SEQ ID NO: 104),
GREVQKFSDWGPLYIYTE (SEQ ID NO: 105),
GREVQKYSDLGPLYIYQE (SEQ ID NO: 106),
GREVHQYSDWGPMYIYNE (SEQ ID NO: 107),
GREVHKNSDWGTLIYYTE (SEQ ID NO: 108),
GREVQKYSDLGPLYIYAE (SEQ ID NO: 109),
GREVHLYSDWGPMYIYTE (SEQ ID NO: 110),
GRHVQMYSDLGPLYIFSE (SEQ ID NO: 111),
GREVHMYSDFGPMYIYTE (SEQ ID NO: 112),
GREVQKYSDWGPLYIYNE (SEQ ID NO: 113),
GREVQMYSDLGPLYIYNE (SEQ ID NO: 114),
GREVQMYSDLGPLYIYTE (SEQ ID NO: 115),

GRHVQIYSDLGPLYIYNE (SEQ ID NO: 116),
GREVQIYSDWGPLYIYNE (SEQ ID NO: 117),
GREVQKYSWDGPLYIYQE (SEQ ID NO: 118),
GRHVHLYSEFGPMYIYNE (SEQ ID NO: 119),
GRDVHMYSDWGPMYIYQE (SEQ ID NO: 120),
GRHVQIYSDWGPLYIYNE (SEQ ID NO: 121),
GRYVQLYSDWGPMYIYTE (SEQ ID NO: 122),
GRQVQVFSDLGPLYIYNE (SEQ ID NO: 123),
GRQVQIYSDWGPLYIYNE (SEQ ID NO: 124) и
GRQVQMYSDWGPLYIYAE (SEQ ID NO: 125).

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления связывающий альбумин аднектин содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична любой одной из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260 или отличается от нее не более чем на 1, 1-2, 1-3, 1-5, 1-10 или 1-20 аминокислотных отличий, например, аминокислотных делеций, дополнений или замен (например, консервативных замен). В соответствии с конкретными вариантами осуществления связывающие альбумин молекулы содержат аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% или 100% идентична отличному от петли CD участку из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления связывающий альбумин аднектин содержит аминокислотную последовательность, изложенную под любым из SEQ ID NO: 29, 55, 81, 190 и 241. В соответствии с другим предпочтительным вариантом осуществления связывающий альбумин аднектин содержит аминокислотную последовательность, изложенную под любым из SEQ ID NO: 36, 62, 88, 197 и 248.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящее изобретение относится к мутантным связывающим альбумин молекулам аднектина, которые имеют цистеиновый остаток, введенный в конкретное положение. Иллюстративные примеры цистеиновых мутаций представляют собой A12C, A26C, S55C, T56C и T58C (см. Таблицу 7 в разделе Примеры). В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления цистеиновые мутации практически не изменяют у связывающего альбумин аднектина связывание с сывороточным альбумином.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления пролиновый остаток вводят в С-конец $^{10}\text{Fn3}$ домена, например, как показано, например, в SEQ ID NO: 184-209 и 235-260. В соответствии с конкретными вариантами осуществления пролиновый остаток вводят в С-конец tandemного связывающего альбумин аднектина как показано, например, в SEQ ID NO: 168 и 261. Добавление пролинового остатка не исключает добавление дополнительных аминокислотных последовательностей к С-концу связывающего альбумин аднектина или tandemного связывающего альбумин аднектина.

С. Перекрестно-конкурирующие аднектины и/или аднектины, которые связываются с одинаковым сайтом связывания аднектина

Настоящее изобретение относится к белкам, таким как аднектины, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, малые молекулы, пептиды и т. п., которые конкурируют (например, перекрестно конкурируют) за связывание с сывороточным альбумином (например, HSA) с отдельными описанными в настоящем документе аднектинами PKE2. Такие конкурирующие белки, например, аднектины, можно выявить по их способности конкурентно ингибировать связывание с сывороточным альбумином (например, HSA) у описанных в настоящем документе аднектинов в ходе стандартных анализов на связывание сывороточного альбумина. Например, можно применять стандартные анализы ИФА, в ходе которых белок рекомбинантного сывороточного альбумина иммобилизируют на планшете, один из белков флуоресцентно метят и оценивают способность немеченного белка конкурировать с меченым белком за связывание.

Далее представлены иллюстративные примеры конкурентных анализов в контексте аднектинов, конкурирующих с одним из описанных в настоящем документе белков PKE2 за связывание с сывороточным альбумином. Можно осуществить аналогичные анализы, в которых тестируют на конкурентность отличный от аднектина белок. В соответствии с одним вариантом осуществления конкурентный формат ИФА можно осуществлять для определения того, связывают ли два связывающих сывороточный альбумин аднектина перекрывающиеся сайты связывания аднектина (эпитопы) на сывороточном альбумине (например, HSA). В соответствии с одним форматом аднектин №1 наносят на планшет, который затем блокируют и промывают. В этот планшет добавляют либо только сывороточный альбумин, либо сывороточный альбумин, предварительно инкубированный

с насыщающей концентрацией аднектина №2. После соответствующего периода инкубации планшет промывают и зондируют при помощи поликлонального антитела к сывороточному альбумину с последующей детекцией при помощи конъюгата стрептавидин-HRP и стандартных процедур проявления при помощи тетраметилбензидина. Если сигнал OD является одинаковым с или без предварительной инкубации с аднектином №2, то два аднектина связываются независимо друг от друга, и их сайты связывания аднектина не перекрываются. Однако, если сигнал OD для лунок, в которые были внесены смеси сывороточного альбумина/аднектина №2, ниже для лунок, в которые был внесен только сывороточный альбумин, то связывание аднектина №2 подтверждают как блокирующее связывание аднектина №1 с сывороточным альбумином.

В качестве альтернативы, аналогичный эксперимент проводят при помощи поверхностного плазмонного резонанса (SPR, например, BIAcore). Аднектин №1 иммобилизируют на поверхности чипа для SPR с последующими введениями инъекцией либо только сывороточного альбумина, либо сывороточного альбумина, предварительно инкубированного с насыщающей концентрацией аднектина №2. Если сигнал связывания для смесей сывороточного альбумина/аднектина №2 является одинаковым или выше, чем только у сывороточного альбумина, то два аднектина связываются независимо друг от друга, и их сайты связывания аднектина не перекрываются. Однако, если сигнал связывания для смесей сывороточного альбумина/аднектина №2 ниже сигнала связывания только для сывороточного альбумина, то связывание аднектина №2 подтверждают как блокирующее связывание аднектина №1 с сывороточным альбумином. Особенностью таких экспериментов является применение насыщающих концентраций аднектина №2. Если сывороточный альбумин не насыщается аднектином №2, то указанные выше заключения не сохраняются. Такие же эксперименты можно применять для определения того, связываются ли любые два связывающих сывороточных альбумин белка с перекрывающимися сайтами связывания аднектина.

Оба приведенных выше в качестве примера анализа также можно осуществлять в обратном порядке, при котором иммобилизируют аднектин №2 и в планшет добавляют сывороточный альбумин – аднектин №1. В качестве альтернативы, аднектин №1 и/или №2 можно заменить на моноклональное антитело и/или растворимый гибридный белок рецептора-Fc.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления конкуренцию можно определить при помощи сэндвич-анализа НТН.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления конкурентным аднектином является аднектин, который связывает тот же сайт связывания аднектина на сывороточном альбумине, что и описанный в настоящем документе конкретный аднектин РКЕ2. Для определения того, связывается ли аднектин с тем же сайтом связывания аднектина, что и эталонный аднектин, можно применять стандартные методики картирования, такие как протеазное картирование, мутационный анализ, рентгеновская кристаллография и 2-мерный ядерный магнитный резонанс (см., например, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)).

Потенциальные конкурирующие связывающие альбумин белки, например, аднектины, могут ингибировать связывание аднектинов РКЕ2 по настоящему изобретению с сывороточным альбумином (например, HSA) по меньшей мере на 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99%. % конкуренции можно определить при помощи описанных выше способов.

D. Мультивалентные/тандемные аднектины

Настоящее изобретение относится к мультивалентным белкам, которые содержат два или более $^{10}\text{Fn3}$ доменов, специфически связывающихся с целью (аднектины). Например, мультивалентный белок может содержать 2, 3 или более $^{10}\text{Fn3}$ доменов, которые ковалентно связаны. В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления мультивалентный белок является биспецифичным или димерным белком, содержащим два $^{10}\text{Fn3}$ домена. В соответствии с конкретными вариантами осуществления мультивалентный белок содержит первый $^{10}\text{Fn3}$ домен, который связывается с сывороточным альбумином (например, сывороточным альбумином человека), и второй $^{10}\text{Fn3}$ домен, который связывается со второй целевой молекулой (например, PCSK9). Если как первая, так и вторая целевые молекулы являются сывороточным альбумином, то первый и второй $^{10}\text{Fn3}$ домены могут связываться с одинаковыми или отличными эпитопами. Кроме того, если первая и вторая целевые молекулы являются одинаковыми, то участки модификации в $^{10}\text{Fn3}$ домене, который

ассоциирован с целевым связыванием, могут быть одинаковыми или отличаться. В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления такой $^{10}\text{Fn3}$ домен мультивалентного фибронектинового белкового каркаса связывается с необходимой целью с K_D менее 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 1 нМ, 500 пМ, 100 пМ или менее. В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления такой $^{10}\text{Fn3}$ домен мультивалентного фибронектинового белкового каркаса связывается с необходимой целью с K_D от 1 пМ до 1 мкМ, от 100 пМ до 500 нМ, от 1 нМ до 500 нМ или от 1 нМ до 100 нМ. В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления такой $^{10}\text{Fn3}$ домен мультивалентного фибронектинового белкового каркаса специфично связывается с целью, которая не связывается $^{10}\text{Fn3}$ доменом дикого типа, в частности человеческим $^{10}\text{Fn3}$ доменом дикого типа.

$^{10}\text{Fn3}$ домены в мультивалентном фибронектиновом каркасном белке могут соединяться полипептидным линкером. Иллюстративные полипептидные линкеры включают полипептиды с 1-20, 1-15, 1-10, 1-8, 1-5, 1-4, 1-3 или 1-2 аминокислотами. Подходящие линкеры для соединения $^{10}\text{Fn3}$ доменов являются линкерами, которые позволяют разделить домены для независимой друг от друга укладки с образованием трехмерной структуры, которая обеспечивает высокоаффинное связывание с целевой молекулой. Конкретные примеры подходящих линкеров включают глицин-сериновые линкеры, глицин-пролиновые линкеры, пролин-аланиновые линкеры, а также линкеры с аминокислотной последовательностью PSTPPTPSPSTPPTSPSPS (SEQ ID NO: 152). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления линкер представляет собой глицин-сериновый линкер. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления линкер представляет собой глицин-сериновый линкер. Такие линкеры содержат глициновые и сериновые остатки и могут иметь длину от 8 до 50, от 10 до 30 и от 10 до 20 аминокислот. Примеры включают линкеры с аминокислотной последовательностью (GS)₇ (SEQ ID NO: 153), G(GS)₆ (SEQ ID NO: 154) и G(GS)₇G (SEQ ID NO: 155). Другие линкеры содержат глутаминовую кислоту и включают, например, (GSE)₅ (SEQ ID NO: 156) и GGSEGGSE (SEQ ID NO: 157). Другие иллюстративные глицин-сериновые линкеры включают (GS)₄ (SEQ ID NO: 158) (GGGGS)₇ (SEQ ID NO: 159) (GGGGS)₅ (SEQ ID NO: 160) и (GGGGS)₃G (SEQ ID NO: 161). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления линкер представляет собой глицин-пролиновый линкер. Такие линкеры содержат глициновые и пролиновые

остатки и могут иметь длину от 3 до 30, от 10 до 30 и от 3 до 20 аминокислот. Примеры включают линкеры с аминокислотной последовательностью (GP)₃G (SEQ ID NO: 162), (GP)₅G (SEQ ID NO: 163) и GPG. В соответствии с конкретными вариантами осуществления линкер может представлять собой пролин-аланиновый линкер с длиной от 3 до 30, от 10 до 30 и от 3 до 20 аминокислот. Примеры пролин-аланиновых линкеров включают, например, (PA)₃ (SEQ ID NO: 164), (PA)₆ (SEQ ID NO: 165) и (PA)₉ (SEQ ID NO: 166). Предполагают, что оптимальную длину линкера и аминокислотный состав можно определить путем постановки стандартного эксперимента при помощи способов, хорошо известных в настоящей области техники. В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления линкер не содержит пары Asp-Lys (DK).

В соответствии с конкретными вариантами осуществления линкер имеет аминокислотную последовательность PSPEPPTPEP (SEQ ID NO: 173), PSPEPPTPEPPSPEPPTPEP (SEQ ID NO: 174), PSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEP (SEQ ID NO: 175) или PSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEP (SEQ ID NO: 176). Обычно линкер может содержать аминокислотную последовательность (PSPEPPTPEP)_n (SEQ ID NO: 262), где n равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 1-5 или 1-10. В соответствии с конкретными вариантами осуществления линкер имеет аминокислотную последовательность EEEEEDE (SEQ ID NO: 177), EEEEEDEEEDE (SEQ ID NO: 178), EEEEEDEEEDEEEDEEEDE (SEQ ID NO: 179), EEEEEDEEEDEEEDEEEDEEEDEEEDEEEDE (SEQ ID NO: 180). Обычно линкер может содержать последовательность (EEEEDE)_nE (SEQ ID NO: 263), где n равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 1-5 или 1-10. В соответствии с конкретными вариантами осуществления линкер имеет аминокислотную последовательность RGGEEKKKEKEKEEQEERETKTP (SEQ ID NO: 181). Такие линкеры можно применять для соединения связывающего альбумин аднектина с другим полипептидом (например, другим аднектином). Иллюстративные применения линкера PSPEPPTPEP (SEQ ID NO: 173) показаны ниже.

N-концевой аднектин, соединенный с C-концевым полипептидом:

...NYRTPGPSPEPPTPEP-*полипептид* (SEQ ID NO: 182)

N-концевой полипептид, соединенный с C-концевым аднектином:

полипептид-PSPEPPTPEPGVSDV... (SEQ ID NO: 183)

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления мультивалентный аднектин представляет собой тандемный аднектин, содержащий первый $^{10}\text{Fn3}$ домен, который связывается с сывороточным альбумином (например, аднектин PKE2), и второй $^{10}\text{Fn3}$ домен, который связывается с конкретной целью. Тандемные аднектины могут иметь конфигурацию связывающий альбумин аднектин-Х и Х-связывающий альбумин аднектин, где Х является специфичным к цели $^{10}\text{Fn3}$ доменом. Специалисту в настоящей области хорошо известны способы тестирования функциональной активности и оценки биологических свойств таких тандемных молекул аднектина.

В соответствии с одним аспектом настоящее изобретение относится к гибриднему полипептиду, содержащему первый десятый домен фибронектина III типа ($^{10}\text{Fn3}$) и второй $^{10}\text{Fn3}$ домен, где первый $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит а) петли АВ, ВС, CD, DE, EF и FG, б) петлю CD с измененной аминокислотной последовательностью по отношению к последовательности соответствующей петли человеческого $^{10}\text{Fn3}$ домена, и с) причем полипептид связывается с сывороточным альбумином человека с K_D менее 500 нМ. «Первый» домен и «второй» домен могут находиться в N-С-концевой или С-N-концевой ориентации.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления, например, мультивалентных аднектинов, первый $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260 или отличается от нее не более чем на 1, 1-2, 1-5, 1-10 или 1-20 аминокислот, например, аминокислотных делеций, дополнений или замен (например, консервативных аминокислотных замен).

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления первый $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит аминокислотную последовательность под любым из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления первый $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 29, 55, 81, 190 или 241. В соответствии с другим предпочтительным вариантом осуществления первый домен $^{10}\text{Fn3}$ содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 36, 62, 88, 197 или 248.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления мультивалентный аднектин содержит второй ¹⁰Fn3 домен, который представляет собой ¹⁰Fn3 домен, специфично связывающийся с целевым белком, отличным от сывороточного альбумина.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления второй ¹⁰Fn3 домен специфично связывается с PCSK9.

Таким образом, в соответствии с одним вариантом осуществления второй ¹⁰Fn3 домен содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична SEQ ID NO: 168 или 261 или отличается от нее не более чем на 1, 1-2, 1-5, 1-10 или 1-20 аминокислот, например, аминокислотных делеций, дополнений или замен (например, консервативных аминокислотных замен). Дополнительные подходящие ¹⁰Fn3 домены, которые связываются с PCSK9, раскрыты, например, в WO2011/130354, содержание которой включено в настоящий документ при помощи ссылки.

В соответствии с одним вариантом осуществления второй ¹⁰Fn3 домен имеет аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 168 или 261.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления настоящее изобретение относится к связывающему PCSK9 и сывороточный альбумин тандемному аднектину, содержащему аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 168 или 261, а также к связывающим PCSK9 и сывороточный альбумин тандемным аднектинам с аминокислотными последовательностями, которые по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны им или отличаются от них не более чем на 1, 1-2, 1-5, 1-10 или 1-20 аминокислот, например, аминокислотных делеций, дополнений или замен (например, консервативных аминокислотных замен), причем тандемный аднектин сохраняет связывание с PCSK9 и сывороточным альбумином.

В соответствии с одним вариантом осуществления настоящее изобретение относится к нуклеиновой кислоте, кодирующей связывающий PCSK9 и сывороточный альбумин тандемный аднектин, содержащей последовательность нуклеиновой кислоты, изложенную под SEQ ID NO: 172, а также последовательности нуклеиновой кислоты, которые по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичны ей, причем кодируемый связывающий PCSK9 и сывороточный альбумин тандемный аднектин сохраняет связывание с PCSK9 и сывороточным альбумином. В соответствии с

некоторыми вариантами осуществления нуклеотидные замены не изменяют получаемую в результате транслируемую аминокислотную последовательность (т. е. молчащие мутации).

В соответствии с одним аспектом основанные на связывании сывороточного альбумина tandemные аднектины (например, tandemный аднектин PCSK9-PKE2), описываемые в настоящем документе, связываются с сывороточным альбумином человека с K_D , составляющей менее 3 мкМ, 2,5 мкМ, 2 мкМ, 1,5 мкМ, 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ, 100 пМ, 100 пМ, 50 пМ или 10 пМ. K_D может, например, находиться в диапазоне от 0,1 нМ до 50 нМ, от 0,1 нМ до 100 нМ, от 0,1 нМ до 1 мкМ, от 0,5 нМ до 50 нМ, от 0,5 нМ до 100 нМ, от 0,5 нМ до 1 мкМ, от 1 нМ до 50 нМ, от 1 нМ до 100 нМ или от 1 нМ до 1 мкМ.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления основанные на связывании сывороточного альбумина tandemные аднектины (например, tandemный аднектин PCSK9-PKE2), описываемые в настоящем документе, также могут связываться с сывороточным альбумином от одного или нескольких из яванского макака, макака-резус, крысы или мыши.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления основанные на связывании сывороточного альбумина tandemные аднектины (например, tandemный аднектин PCSK9-PKE2), описываемые в настоящем документе, связываются с сывороточным альбумином макака-резус (RhSA) или сывороточным альбумином яванского макака (CySA) с K_D , составляющей менее 3 мкМ, 2,5 мкМ, 2 мкМ, 1,5 мкМ, 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ. K_D может, например, находиться в диапазоне от 0,1 нМ до 50 нМ, от 0,1 нМ до 100 нМ, от 0,1 нМ до 1 мкМ, от 0,5 нМ до 50 нМ, от 0,5 нМ до 100 нМ, от 0,5 нМ до 1 мкМ, от 1 нМ до 50 нМ, от 1 нМ до 100 нМ или от 1 нМ до 1 мкМ.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления основанные на связывании сывороточного альбумина tandemные аднектины (например, tandemный аднектин PCSK9-PKE2), описываемые в настоящем документе, связываются с сывороточным альбумином макака-резус (RhSA), сывороточным альбумином яванского макака (CySA) и сывороточным альбумином мыши (MSA) с K_D , составляющей менее 3 мкМ, 2,5 мкМ, 2 мкМ, 1,5 мкМ, 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ. K_D может, например, находиться в диапазоне от 0,1 нМ до 50 нМ, от 0,1 нМ до 100 нМ, от 0,1 нМ до 1 мкМ, от 0,5 нМ до 50 нМ, от 0,5 нМ до 100 нМ, от 0,5 нМ до 1 мкМ, от 1 нМ до 50 нМ, от 1 нМ до 100 нМ или от 1 нМ до 1 мкМ.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления основанные на связывании сывороточного альбумина тандемные аднектины (например, тандемный аднектин PCSK9-PKE2), описываемые в настоящем документе, связываются с сывороточным альбумином макака-резус (RhSA), сывороточным альбумином яванского макака (CySA), сывороточным альбумином мыши (MSA) и сывороточным альбумином крысы (RSA) с K_D , составляющей менее 3 мкМ, 2,5 мкМ, 2 мкМ, 1,5 мкМ, 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ или 100 пМ. K_D может, например, находиться в диапазоне от 0,1 нМ до 50 нМ, от 0,1 нМ до 100 нМ, от 0,1 нМ до 1 мкМ, от 0,5 нМ до 50 нМ, от 0,5 нМ до 100 нМ, от 0,5 нМ до 1 мкМ, от 1 нМ до 50 нМ, от 1 нМ до 100 нМ или от 1 нМ до 1 мкМ.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления основанные на связывании сывороточного альбумина тандемные аднектины (например, тандемный аднектин PCSK9-PKE2), описываемые в настоящем документе, связываются с сывороточным альбумином в диапазоне pH от 5,5 до 7,4.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления основанные на связывании сывороточного альбумина тандемные аднектины (например, тандемный аднектин PCSK9-PKE2), описываемые в настоящем документе, связываются с доменом I-II сывороточного альбумина человека.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления основанные на связывании сывороточного альбумина тандемные аднектины (например, тандемный аднектин PCSK9-PKE2), описываемые в настоящем документе, имеют период полужизни в сыворотке в присутствии альбумина человека, сывороточного альбумина яванского макака, сывороточного альбумина макака-резус, сывороточного альбумина мыши и/или сывороточного альбумина крысы, составляющем по меньшей мере 1 час, 2 часа, 5 часов, 10 часов, 20 часов, 30 часов, 40 часов, 50 часов, 60 часов, 70 часов, 80 часов, 90 часов, 100 часов, 150 часов, 200 часов или по меньшей мере приблизительно 300 часов. В соответствии с конкретными вариантами осуществления основанные на связывании сывороточного альбумина тандемные аднектины (например, тандемный аднектин PCSK9-PKE2), описываемые в настоящем документе, имеют период полужизни в сыворотке в присутствии альбумина человека, сывороточного альбумина яванского макака, сывороточного альбумина макака-резус, сывороточного альбумина мыши и/или сывороточного альбумина крысы, составляющий 1-300 часов, например, 1-250 часов, 1-200 часов, 1-150 часов, 1-100

часов, 1-90 часов, 1-80 часов, 1-70 часов, 1-60 часов, 1-50 часов, 1-40 часов, 1-30 часов, 1-20 часов, 1-10 часов, 1-5 часов, 5-300 часов, 10-300 часов, 20-300 часов, 30-300 часов, 40-300 часов, 50-300 часов, 60-300 часов, 70-300 часов, 80-300 часов, 90-300 часов, 100-300 часов, 150-300 часов, 200-300 часов, 250-300 часов, 5-250 часов, 10-200 часов, 50-150 часов или 80-120 часов.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке партнерского аднектина в основанном на связывании сывороточного альбумина тандемном аднектине (например, аднектина PCSK9 в случае тандемного аднектина PCSK9-РКЕ2) повышен относительно периода полужизни в сыворотке партнерского аднектина без конъюгации со связывающим сывороточный альбумин аднектином. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке основанного на связывании сывороточного альбумина тандемного аднектина по меньшей мере на 20, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 180, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1500, 1800, 1900, 2000, 2500 или 3000% дольше относительно периода полужизни в сыворотке партнерского аднектина без конъюгации со связывающим сывороточный альбумин аднектином. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке основанного на связывании сывороточного альбумина тандемного аднектина на 20-3000%, например, 40-3000%, 60-3000%, 80-3000%, 100-3000%, 120-3000%, 150-3000%, 180-3000%, 200-3000%, 400-3000%, 600-3000%, 800-3000%, 1000-3000%, 1200-3000%, 1500-3000%, 1800-3000%, 1900-3000%, 2000-3000%, 2500-3000%, 20-2500%, 20-2000%, 20-1900%, 20-1800%, 20-1500%, 20-1200%, 20-1000%, 20-800%, 20-600%, 20-400%, 20-200%, 20-180%, 20-150%, 20-120%, 20-100%, 20-80%, 20-60%, 20-40%, 50-2500%, 100-2000%, 150-1500%, 200-1000%, 400-800% или 500-700% дольше относительно периода полужизни в сыворотке партнерского аднектина без конъюгации со связывающим сывороточный альбумин аднектином. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке основанного на связывании сывороточного альбумина тандемного аднектина по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раз, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз, 8 раз, 10 раз, 12 раз, 13 раз, 15 раз, 17 раз, 20 раз, 22 раза, 25 раз, 27 раз, 30 раз, 35 раз, 40 раз или 50 раз больше периода полужизни в сыворотке партнерского аднектина без конъюгации со связывающим сывороточный альбумин аднектином. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке основанного на связывании

сывороточного альбумина tandemного аднектина в 1,5-50 раз, например, в 1,5-40 раз, 1,5-35 раз, 1,5-30 раз, 1,5-27 раз, 1,5-25 раз, 1,5-22 раза, 1,5-20 раз, 1,5-17 раз, 1,5-15 раз, 1,5-13 раз, 1,5-12 раз, 1,5-10 раз, 1,5-9 раз, 1,5-8 раз, 1,5-7 раз, 1,5-6 раз, 1,5-5 раз, 1,5-4,5 раза, 1,5-4 раза, 1,5-3,5 раза, 1,5-3 раза, 1,5-2,5 раза, 1,5-2 раза, 2-50 раз, 2,5-50 раз, 3-50 раз, 3,5-50 раз, 4-50 раз, 4,5-50 раз, 5-50 раз, 6-50 раз, 7-50 раз, 8-50 раз, 10-50 раз, 12-50 раз, 13-50 раз, 15-50 раз, 17-50 раз, 20-50 раз, 22-50 раз, 25-50 раз, 27-50 раз, 30-50 раз, 40-50 раз, 2-40 раз, 5-35 раз, 10-20 раз или 10-15 раз больше периода полужизни в сыворотке партнерского аднектина без конъюгации со связывающим сывороточный альбумин аднектином. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке основанного на связывании сывороточного альбумина tandemного аднектина составляет по меньшей мере 2 часа, 2,5 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов, 10 часов, 15 часов, 20 часов, 25 часов, 30 часов, 35 часов, 40 часов, 50 часов, 60 часов, 70 часов, 80 часов, 90 часов, 100 часов, 110 часов, 120 часов, 130 часов, 135 часов, 140 часов, 150 часов, 160 часов или 200 часов. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке основанного на связывании сывороточного альбумина tandemного аднектина составляет 2-200 часов, 2,5-200 часов, 3-200 часов, 4-200 часов, 5-200 часов, 6-200 часов, 7-200 часов, 8-200 часов, 9-200 часов, 10-200 часов, 15-200 часов, 20-200 часов, 25-200 часов, 30-200 часов, 35-200 часов, 40-200 часов, 50-200 часов, 60-200 часов, 70-200 часов, 80-200 часов, 90-200 часов, 100-200 часов, 125-200 часов, 150-200 часов, 175-200 часов, 190-200 часов, 2-190 часов, 2-175 часов, 2-150 часов, 2-125 часов, 2-100 часов, 2-90 часов, 2-80 часов, 2-70 часов, 2-60 часов, 2-50 часов, 2-40 часов, 2-35 часов, 2-30 часов, 2-25 часов, 2-20 часов, 2-15 часов, 2-10 часов, 2-9 часов, 2-8 часов, 2-7 часов, 2-6 часов, 2-5 часов, 2-4 часов, 2-3 часов, 5-175 часов, 10-150 часов, 15-125 часов, 20-100 часов, 25-75 часов или 30-60 часов.

Е. Конъюгаты связывающих сывороточный альбумин аднектинов

В соответствии с конкретными аспектами настоящее изобретение относится к конъюгатам, содержащим связывающий сывороточный альбумин аднектин и по меньшей мере один дополнительный фрагмент (например, терапевтический фрагмент). Дополнительный фрагмент может быть пригоден для любой диагностической, визуализационной или терапевтической цели.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления связывающий сывороточный альбумин аднектин гибридизирован со вторым фрагментом, который представляет собой малую органическую молекулу, нуклеиновую кислоту, пептид или белок. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления связывающий сывороточный альбумин аднектин гибридизирован с терапевтическим фрагментом, который нацелен на рецепторы, лиганды рецепторов, белки вирусной оболочки, белки иммунной системы, гормоны, ферменты, антигены или сигнальные белки клеток. Гибрид можно сформировать путем присоединения второго фрагмента к любому концу связывающего сывороточный альбумин аднектина, т. е. связывающий сывороточный альбумин аднектин-терапевтическая молекула или терапевтическая молекула-связывающий сывороточный альбумин аднектин.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке фрагмента, гибридизированного со связывающим сывороточный альбумин аднектином повышен относительно периода полужизни в сыворотке фрагмента без гибридизации со связывающим сывороточный альбумин аднектином. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке гибрида связывающего сывороточный альбумин аднектина по меньшей мере на 20, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 180, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1500, 1800, 1900, 2000, 2500 или 3000% дольше относительно периода полужизни в сыворотке фрагмента без гибридизации со связывающим сывороточный альбумин аднектином. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке гибрида связывающего сывороточный альбумин аднектина на 20-3000%, например, 40-3000%, 60-3000%, 80-3000%, 100-3000%, 120-3000%, 150-3000%, 180-3000%, 200-3000%, 400-3000%, 600-3000%, 800-3000%, 1000-3000%, 1200-3000%, 1500-3000%, 1800-3000%, 1900-3000%, 2000-3000%, 2500-3000%, 20-2500%, 20-2000%, 20-1900%, 20-1800%, 20-1500%, 20-1200%, 20-1000%, 20-800%, 20-600%, 20-400%, 20-200%, 20-180%, 20-150%, 20-120%, 20-100%, 20-80%, 20-60%, 20-40%, 50-2500%, 100-2000%, 150-1500%, 200-1000%, 400-800% или 500-700% дольше относительно периода полужизни в сыворотке фрагмента без гибридизации со связывающим сывороточный альбумин аднектином. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке гибрида аднектина РКЕ2 по меньшей мере в 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 6 раз, 7 раз,

8 раз, 10 раз, 12 раз, 13 раз, 15 раз, 17 раз, 20 раз, 22 раза, 25 раз, 27 раз, 30 раз, 35 раз, 40 раз или 50 раз больше периода полужизни в сыворотке фрагмента без гибридизации со связывающим сывороточный альбумин аднектином. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке гибрида аднектина РКЕ2 в 1,5-50 раз, например, 1,5-40 раз, 1,5-35 раз, 1,5-30 раз, 1,5-27 раз, 1,5-25 раз, 1,5-22 раза, 1,5-20 раз, 1,5-17 раз, 1,5-15 раз, 1,5-13 раз, 1,5-12 раз, 1,5-10 раз, 1,5-9 раз, 1,5-8 раз, 1,5-7 раз, 1,5-6 раз, 1,5-5 раз, 1,5-4,5 раза, 1,5-4 раз, 1,5-3,5 раза, 1,5-3 раза, 1,5-2,5 раза, 1,5-2 раза, 2-50 раз, 2,5-50 раз, 3-50 раз, 3,5-50 раз, 4-50 раз, 4,5-50 раз, 5-50 раз, 6-50 раз, 7-50 раз, 8-50 раз, 10-50 раз, 12-50 раз, 13-50 раз, 15-50 раз, 17-50 раз, 20-50 раз, 22-50 раз, 25-50 раз, 27-50 раз, 30-50 раз, 40-50 раз, 2-40 раз, 5-35 раз, 10-20 раз или 10-15 раз больше периода полужизни в сыворотке фрагмента без гибридизации со связывающим сывороточный альбумин аднектином. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления период полужизни в сыворотке гибрида связывающего сывороточный альбумин аднектина составляет по меньшей мере 2 часа, 2,5 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов, 10 часов, 15 часов, 20 часов, 25 часов, 30 часов, 35 часов, 40 часов, 50 часов, 60 часов, 70 часов, 80 часов, 90 часов, 100 часов, 110 часов, 120 часов, 130 часов, 135 часов, 140 часов, 150 часов, 160 часов или 200 часов. В соответствии с конкретными вариантами осуществления период полужизни в сыворотке гибрида связывающего сывороточный альбумин аднектина составляет 2-200 часов, 2,5-200 часов, 3-200 часов, 4-200 часов, 5-200 часов, 6-200 часов, 7-200 часов, 8-200 часов, 9-200 часов, 10-200 часов, 15-200 часов, 20-200 часов, 25-200 часов, 30-200 часов, 35-200 часов, 40-200 часов, 50-200 часов, 60-200 часов, 70-200 часов, 80-200 часов, 90-200 часов, 100-200 часов, 125-200 часов, 150-200 часов, 175-200 часов, 190-200 часов, 2-190 часов, 2-175 часов, 2-150 часов, 2-125 часов, 2-100 часов, 2-90 часов, 2-80 часов, 2-70 часов, 2-60 часов, 2-50 часов, 2-40 часов, 2-35 часов, 2-30 часов, 2-25 часов, 2-20 часов, 2-15 часов, 2-10 часов, 2-9 часов, 2-8 часов, 2-7 часов, 2-6 часов, 2-5 часов, 2-4 часов, 2-3 часов, 5-175 часов, 10-150 часов, 15-125 часов, 20-100 часов, 25-75 часов или 30-60 часов.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления гибридные белки связывающего сывороточный альбумин аднектина связываются с HSA с K_D , составляющей менее 3 мкМ, 2,5 мкМ, 2 мкМ, 1,5 мкМ, 1 мкМ, 500 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ, 100 пМ, 100 пМ, 50 пМ или 10 пМ. K_D может, например, находиться в диапазоне от 0,1

нМ до 50 нМ, от 0,1 нМ до 100 нМ, от 0,1 нМ до 1 мкМ, от 0,5 нМ до 50 нМ, от 0,5 нМ до 100 нМ, от 0,5 нМ до 1 мкМ, от 1 нМ до 50 нМ, от 1 нМ до 100 нМ или от 1 нМ до 1 мкМ.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления терапевтический фрагмент может быть напрямую или опосредовано связан со связывающим сывороточный альбумин аднектином при помощи описанного в настоящем документе полимерного линкера. Полимерные линкеры можно применять для оптимального изменения расстояния между каждым компонентом гибрида для создания белкового гибрида с одной или несколькими из следующих характеристик: 1) уменьшенные или увеличенные стерические затруднения связывания одного или нескольких белковых доменов при связывании с представляющим интерес белком, 2) повышенная стабильность или растворимость белка, 3) пониженная агрегация белка и 4) повышенная общая авидность или аффинность белка.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления описанные в настоящем документе гибриды связаны со связывающим сывороточный альбумин аднектином с помощью полипептидного линкера, имеющего сайт узнавания протеазами, который расщепляется протеазой в крови или целевой ткани. Такие варианты осуществления можно применять для высвобождения терапевтического белка для лучшей доставки или улучшения терапевтических свойств или более эффективной продуктивности.

Дополнительные линкеры или спэйсеры можно внести на С-конце $^{10}\text{Fn3}$ домена между $^{10}\text{Fn3}$ доменом и полипептидным линкером.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления терапевтический фрагмент присоединен к связывающему сывороточный альбумин аднектину посредством биосовместимого полимера, такого как полимерный сахар. Полимерный сахар может включать сайт ферментативного расщепления, который расщепляется ферментом в крови или целевой ткани. Такие варианты осуществления можно применять для высвобождения терапевтических белков для лучшей доставки или улучшения терапевтических свойств или более эффективной продуктивности.

Описываемые в настоящем документе гибридные молекулы связывающего сывороточный альбумин аднектина пригодны для повышения периода полужизни терапевтического фрагмента путем создания гибрида между терапевтическим фрагментом и связывающим сывороточный альбумин аднектином. Такие гибридные молекулы можно применять для лечения состояний, которые отвечают на биологическую активность

содержащегося в гибриде терапевтического фрагмента. Настоящее изобретение относится к применению гибридных молекул связывающего сывороточный альбумин Fn3 при заболеваниях, вызванных нарушением регуляции любого из приведенных белков или молекул.

В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления терапевтический фрагмент, который соединен (либо на С-конце, либо на N-конце) со связывающим сывороточный альбумин аднектином, представляет собой VEGF, VEGF-R1, VEGF-R2, VEGF-R3, Her-1, Her-2, Her-3, EGF-I, EGF-2, EGF-3, альфа3, cMet, ICOS, CD40L, LFA-I, c-Met, ICOS, LFA-I, IL-6, B7.1, W1.2, OX40, IL-1b, TACI, IgE, BAFF или BLys, TPO-R, CD19, CD20, CD22, CD33, CD28, IL-I-R1, TNF-альфа, TRAIL-R1, рецептор комплемента 1, FGFa, остеооптин, витронектин, эфрин A1-A5, эфрин B1-B3, альфа-2-макроглобулин, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CCL13, CCL14, CCL15, CXCL16, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, PDGF, TGFb, GMCSF, SCF, p40 (IL12/IL23), IL1b, IL1a, IL1ra, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL8, IL10, IL12, IL15, IL23, Fas, FasL, лиганд Flt3, 41BB, ACE, ACE-2, KGF, FGF-7, SCF, нетрин1,2, IFNa,b,g, каспаза-2,3,7,8,10, ADAM S1,S5,8,9,15,TS1,TS5; адипонектин, ALCAM, ALK-I, APRIL, аннексин V, ангиогенин, амфирегулин, ангиопоэтин-1,2,4, B7-1/CD80, B7-2/CD86, B7-H1, B7-H2, B7-H3, Bcl-2, BACE-I, BAK, BCAM, BDNF, bNGF, bECGF, BMP2,3,4,5,6,7,8; CRP, кадгерин 6, 8, 11; катепсин A,B,C,D,E,L,S,V,X; CD1 1a/LFA-1, LFA-3, GP2b3a, рецептор GH, F белок RSV, IL-23 (p40, p19), IL-12, CD80, CD86, CD28, CTLA-4, альфа4-бета1, альфа4-бета7, TNF/лимфотоксин, IgE, CD3, CD20, IL-6, IL-6R, BLYS/BAFF, IL-2R, HER2, EGFR, CD33, CD52, дигоксин, Rho (D), белок вируса ветряной оспы, белок вируса гепатита, белок CMV, белок возбудителя столбняка, белок вируса коровьей оспы, антитоксин против змеиного яда, ботулинический белок, Trail-R1, Trail-R2, cMet, представители семейства TNF-R, такие как LA NGF-R, CD27, CD30, CD40, CD95, рецептор а/б лимфотоксина, WsI-I, TL1A/TNFSF15, BAFF, BAFF-R/TNFRSF13C, TRAIL R2/TNFRSF10B, TRAIL R2/TNFRSF10B, Fas/TNFRSF6 CD27/TNFRSF7, DR3/TNFRSF25, HVEM/TNFRSF14, TROY/TNFRSF19, CD40 лиганд/TNFSF5, BCMA/TNFRSF17, CD30/TNFRSF8, LIGHT/TNFSF14, 4-1BB/TNFRSF9, CD40/TNFRSF5, GITR/[гамма]NFRSF 18, остеопротегерин/TNFRSF1 IB, RANK/TNFRSF1 IA, TRAIL R3/TNFRSF10C, TRAIL/TNFSF10, TRANCE/RANK L/TNFSF11, 4-1BB лиганд/TNFSF9, TWEAK/TNFSF12,

CD40 лиганд/TNFSFS, Fas лиганд/TNFSF6, RELT/TNFRSF19L, APRIL/TNFSF13, DcR3/TNFRSF6B, TNF RI/TNFRSFIA, TRAIL R1/TNFRSFIOA, TRAIL R4/TNFRSF10D, CD30 лиганд/TNFSF8, GTR лиганд/TNFSF18, TNFSF18, TACI/TNFRSF13B, NGF R/TNFRSF16, OX40 лиганд/TNFSF4, TRAIL R2/TNFRSF10B, TRAIL R3/TNFRSF10C, TWEAK R/TNFRSF12, BAFF/BLyS/TNFSF13, DR6/TNFRSF21, TNF-альфа/TNFSF1 A, про-TNF-альфа/TNFSF1A, лимфотоксин бета R/TNFRSF3, химера лимфотоксин бета R (LTbR)/Fc, TNF RI/TNFRSFIA, TNF-бета/TNFSF1B, PGRP-S, TNF RI/TNFRSFIA, TNF RII/TNFRSFIB, EDA-A2, TNF-альфа/TNFSFIA, EDAR, XEDAR, TNF RI/TNFRSFIA.

В соответствии с иллюстративными вариантами осуществления терапевтический фрагмент, который соединен (либо на С-конце, либо на N-конце) со связывающим сывороточный альбумин аднектином, представляет собой любой из приведенных далее белков или связывающихся с ним белков: 4EBP1, 14-3-3 дзета, 53BP1, 2B4/SLAMF4, CCL21/6Скин, 4-1BB/TNFRSF9, 8D6A, 4-1BB лиганд/TNFSF9, 8-оксо-dG, 4-амино-1,8-нафталимид, A2B5, аминопептидаза LRAP/ERAP2, A33, аминопептидаза N/ANPEP, Aag, аминопептидаза P2/XPNPEP2, ABCG2, аминопептидаза P1/XPNPEP1, ACE, аминопептидаза PILS/ARTS1, ACE-2, амнионлесс, актин, амфирегулин, бета-актин, АМПК альфа 1/2, активин А, АМПК альфа 1, активин АВ, АМПК альфа 2, активин В, АМПК бета 1, активин С, АМПК бета 2, активин RIA/ALK-2, андроген R/NR3C4, активин RIB/ALK-4, ангиогенин, активин RIIA, ангиопоэтин-1, активин RIIВ, ангиопоэтин-2, ADAMS, ангиопоэтин-3, ADAM9, ангиопоэтин-4, ADAM10, ангиопоэтин-подобный фактор 1, ADAM12, ангиопоэтин-подобный фактор 2, ADAM15, ангиопоэтин-подобный фактор 3, TACE/ADAM17, ангиопоэтин-подобный фактор 4, ADAM19, ангиопоэтин-подобный фактор 7/CDT6, ADAM33, ангиостатин, ADAMTS4, аннексин А1/аннексин I, ADAMTS5, аннексин А7, ADAMTS1, аннексин А10, ADAMTSL-1/пунктин, аннексин V, адипонектин/Аср30, ANP, АЕBSF, АР-сайт, агрекан, АРАF-I, агрин, АРС, АgRP, АРЕ, АGTR-2, АРJ, АIF, АPLP-I, Akt, АPLP-2, Akt1, аполипопротеин АI, Akt2, аполипопротеин В, Akt3, АРР, сывороточный альбумин, APRIL/TNFSF13, АLCAM, АRC, АLK-I, артемин, АLK-7, арилсульфатаза АJARSA, щелочная фосфатаза, АSAH2/N-ацилсфингозин амидогидролаза-2, альфа 2и-глобулин, АSC, альфа-1-кислый гликопротеин, АSGR1, альфа-фетопротеин, АSK1, АLS, АТМ, амелобластический АTRIP, АMICA/JAML, Aurora А, АMIGO, Aurora В, АMIGO2, аксин-1, АMIGO3, АxI, аминоксилаза/АСУ1,

азуроцидин/CAP37/HBP, аминопептидаза A/ENPEP, B4GALT1, BIM, B7-1/CD80, 6-биотин-17-NAD, B7-2/CD86, BLAME/SLAMF8, B7-H1/PD-L1, CXCL13/BLC/BCA-1, B7-H2, BLIMP1, B7-H3, BIK, B7-H4, BMI-1, BACE-1, BMP-1/PCP, BACE-2, BMP-2, Bad, BMP-3, BAFF/TNFSF13B, BMP-3b/GDF-10, BAFF R/TNFRSF 13C, BMP-4, Bag-1, BMP-5, BAK, BMP-6, BAMBI/NMA, BMP-7, BARD 1, BMP-8, Bax, BMP-9, BCAM, BMP-10, Bcl-10, BMP-15/GDF-9B, Bcl-2, BMPR-IA/ALK-3, Bcl-2 родственный белок A1, BMPR-IB/ALK-6, Bcl-w, BMPR-II, Bcl-x, BNIP3L, Bcl-xL, BOC, BCMA/TNFRSF17, BOK, BDNF, BPDE, бензамид, брахиурия, общая бета-цепь, B-Raf, бета IG-H3, CXCL14/BRAK, бета-целлюлин, BRCA1, бета-дефензин 2, BRCA2, BID, BTLA, бигликан, Bub-1, Bik-подобный белок-убийца, c-jun, CD90/Thyl, c-Rel, CD94, CCL6/C10, CD97, Clq R1/CD93, CD151, ClqTNF1, CD160, ClqTNF4, CD163, ClqTNF5, CD164, компонент комплемента C1r, CD200, компонент комплемента C1s, CD200 R1, компонент комплемента C2, CD229/SLAMF3, компонент комплемента C3a, CD23/Fc эpsilon R11, компонент комплемента C3d, CD2F-10/SLAMF9, компонент комплемента C5a, CD5L, кадгерин-4/R-кадгерин, CD69, кадгерин-6, CDC2, кадгерин-8, CDC25A, кадгерин-11, CDC25B, кадгерин-12, CDCP1, кадгерин-13, CDO, кадгерин-17, CDX4, E-кадгерин, CEACAM-1/CD66a, N-кадгерин, CEACAM-6, P-кадгерин, Cerberus 1, VE-кадгерин, CFTR, кальбиндин D, cGMP, кальциневрин A, Chem R23, кальциневрин B, хемерин, калретикулин-2, наборы образцов хемокинов, CaM-киназа II, хитиназа 3-подобный фактор 1, cAMP, хитотриозидаза/CHIT1, каннабиноид R1, Chk1, каннабиноид R2/CB2/CNR2, Chk2, CAR/NR1H3, CHL-1/L1CAM-2, карбоангидраза I, холинацетилтрансфераза/CbAT, карбоангидраза II, хондролектин, карбоангидраза III, хордин, карбоангидраза IV, хордин-подобный фактор 1, карбоангидраза VA, хордин-подобный фактор 2, карбоангидраза VB, CINC-I, карбоангидраза VI, CINC-2, карбоангидраза VII, CINC-3, карбоангидраза VIII, класпин, карбоангидраза IX, клаудин-6, карбоангидраза X, CLC, карбоангидраза XII, CLEC-1, карбоангидраза XIII, CLEC-2, карбоангидраза XIV, CLECSF 13/CLEC4F, карбоксиметиллизин, CLECSF8, карбоксипептидаза A1/CPA1, CLF-I, карбоксипептидаза A2, CL-P1/COLEC12, карбоксипептидаза A4, кластерин, карбоксипептидаза B1, кластерин-подобный фактор 1, карбоксипептидаза E/CPE, CMG-2, карбоксипептидаза X1, CMV UL146, кардиотрофин-1, CMV UL147, карнозиндипептидаза 1, CNP, Caronte, CNTF, CART, CNTF R альфа, каспаза, фактор коагуляции II/тромбин, каспаза-1, фактор коагуляции II1/тканевой фактор, каспаза-

2, фактор коагуляции VII, каспаза-3, фактор коагуляции X, каспаза-4, фактор коагуляции XI, каспаза-6, фактор коагуляции XIV/белок C, каспаза-7, СОСО, каспаза-8, когезин, каспаза-9, коллаген I, каспаза-10, коллаген II, каспаза-12, коллаген IV, каспаза-13, общая гамма-цепь/IL-2 R гамма, пептидные ингибиторы каспаз, СОМР/тромбоспондин-5, каталаза, компонент комплемента C1rLP, бета-катенин, компонент комплемента C1qA, катепсин 1, компонент комплемента C1qC, катепсин 3, фактор D комплемента, катепсин 6, фактор I комплемента, катепсин A, MASP3 комплемента, катепсин B, коннексин 43, катепсин C/DPPI, контактин-1, катепсин D, контактин-2/TAG1, катепсин E, контактин-4, катепсин F, контактин-5, катепсин H, корин, катепсин L, корнулин, катепсин O, CORS26/C1qTNF,3, катепсин S, кортикальные стволовые клетки крысы, катепсин V, кортизол, катепсин ХИТJ?, СОUP-TF I/NR2F1, СВР, СОUP-TF II/NR2F2, СС1, СОХ-1, ССК-А R, СОХ-2, ССL28, СRACC/SLAMF7, ССR1, С-реактивный белок, ССR2, креатинкиназа, мышечная/СКММ, ССR3, креатинин, ССR4, СREB, ССR5, СREG, ССR6, СRELD1, ССR7, СRELD2, ССR8, СRНВР, ССR9, СRHR-I, ССR10, СRIM1, CD155/PVR, Cripto, CD2, CRISP-2, CD3, CRISP-3, CD4, Crossveinless-2, CD4+/45RA-, CRTAM, CD4+/45RO, CRTH-2, CD4+/CD62L-/CD44, CRY1, CD4+/CD62L+/CD44, Cryptic, CD5, CSB/ERCC6, CD6, CCL27/СТACK, CD8, СТGF/CCN2, CD8+/45RA-, СTLA-4, CD8+/45RO-, кубилин, CD9, CX3CR1, CD14, CXADR, CD27/TNFRSF7, CXCL16, CD27 лиганд/TNFSF7, CXCR3, CD28, CXCR4, CD30/TNFRSF8, CXCR5, CD30 лиганд/TNFSF8, CXCR6, CD31/PECAM-1, циклофилин A, CD34, Cyt61/CCN1, CD36/SR-B3, цистатин A, CD38, цистатин B, CD40/TNFRSF5, цистатин C, CD40 лиганд/TNFSF5, цистатин D, CD43, цистатин E/M, CD44, цистатин F, CD45, цистатин H, CD46, цистатин H2, CD47, цистатин S, CD48/SLAMF2, цистатин SA, CD55/DAF, цистатин SN, CD58/LFA-3, цитохром C, CD59, апоцитохром C, CD68, голоцитохром c, CD72, цитокератин 8, CD74, цитокератин 14, CD83, цитокератин 19, CD84/SLAMF5, цитонин, D6, DISP1, DAN, Dkk-1, DANCE, Dkk-2, DARPP-32, Dkk-3, DAX1/NR0B1, Dkk-4, DCC, DLEC, DCIR/CLEC4A, DLL1, DCAR, DLL4, DcR3/TNFRSF6B, d-люциферин, DC-SIGN, ДНК-лигаза IV, DC-SIGNR/CD299, ДНК-полимераза бета, DcTRAIL R1/TNFRSF23, DNAM-1, DcTRAIL R2/TNFRSF22, DNA-ПКcs, DDR1, DNER, DDR2, допа-декарбоксилаза/DDC, DEC-205, DPCR-I, декапентаплегический транскрипт, DPP6, декорин, DPP A4, дектин-1/CLEC7A, DPPA5/ESG1, дектин-2/CLEC6A, DPPII/QPP/DPP7, DEP-1/CD148, DPPIV/CD26, Desert Hedgehog, DR3/TNFRSF25, десмин, DR6/TNFRSF21, десмоглеин-1, DSCAM,

десмоглеин-2, DSCAM-L1, десмоглеин-3, DSPG3, Dishevelled-1, Dtk, Dishevelled-3, динамин, EAR2/NR2F6, EphA5, ECE-1, EphA6, ECE-2, EphA7, ECF-L/CHI3L3, EphA8, ECM-I, EphB1, Ecotin, EphB2, EDA, EphB3, EDA-A2, EphB4, EDAR, EphB6, EDG-I, эфрин, EDG-5, эфрин-A1, EDG-8, эфрин-A2, eEF-2, эфрин-A3, EGF, эфрин-A4, EGF R, эфрин-A5, EGR1, эфрин-B, EG-VEGF/PK1, эфрин-B1, eIF2 альфа, эфрин-B2, eIF4E, эфрин-B3, Elk-I, эпиген, EMAP-II, эпиморфин/синтаксин 2, EMMPRIN/CD147, эпирегулин, CXCL5/ENA, EPR-1/Ха рецептор, эндокан, ErbB2, эндоглин/CD105, ErbB3, эндогликан, ErbB4, эндонуклеаза III, ERCC1, эндонуклеаза IV, ERCC3, эндонуклеаза V, ERK1/ERK2, эндонуклеаза VIII, ERK1, эндорепеллин/перлекан, ERK2, эндостатин, ERK3, эндотелин-1, ERK5/ВМК1, Engrailed-2, ERR альфа/NR3B1, EN-RAGE, ERR бета/NR3B2, энтеропептидаза/энтерокиназа, ERR гамма/NR3B3, CCL1 1/эотаксин, эритропоэтин, CCL24/эотаксин-2, эритропоэтин R, CCL26/эотаксин-3, ESAM, EpCAM/TROP-1, ER альфа/NR3A1, EPCR, ER бета/NR3A2, Eph, экзонуклеаза III, EphA1, экзостозин-подобный фактор 2/EXTL2, EphA2, экзостозин-подобный фактор 3/EXTL3, EphA3, FABP1, FGF-ВР, FABP2, FGF R1-4, FABP3, FGF R1, FABP4, FGF R2, FABP5, FGF R3, FABP7, FGF R4, FABP9, FGF R5, фактор В комплемента, Fgr, FADD, FHR5, FAM3A, фибронектин, FAM3B, фиколин-2, FAM3C, фиколин-3, FAM3D, FITC, белок активации фибробластов альфа/FAP, FKBP38, Fas/TNFRSF6, Flap, Fas лиганд/TNFSF6, FLIP, FATP1, FLRG, FATP4, FLRT1, FATP5, FLRT2, Fc гамма R1/CD64, FLRT3, Fc гамма RIIb/CD32b, Flt-3, Fc гамма RIIc/CD32c, Flt-3 лиганд, Fc гамма RIIa/CD32a, фоллистатин, Fc гамма RIII/CD16, фоллистатин-подобный фактор 1, FcRH1/IRTA5, FosB/G0S3, FcRH2/IRTA4, FoxD3, FcRH4/IRTA1, FoxJ1, FcRH5/IRTA2, FoxP3, Fc рецептор-подобный фактор 3/CD16-2, Fpg, FEN-I, FPR1, фетуин А, FPRL1, фетуин В, FPRL2, FGF кислый, CX3CL1/фракталкин, FGF основной, Frizzled-1, FGF-3, Frizzled-2, FGF-4, Frizzled-3, FGF-5, Frizzled-4, FGF-6, Frizzled-5, FGF-8, Frizzled-6, FGF-9, Frizzled-7, FGF-10, Frizzled-8, FGF-11, Frizzled-9, FGF-12, Frk, FGF-13, sFRP-1, FGF-16, sFRP-2, FGF-17, sFRP-3, FGF-19, sFRP-4, FGF-20, фурин, FGF-21, FXR/NR1H4, FGF-22, Fyn, FGF-23, G9a/EHMT2, GFR альфа-3/GDNF R альфа-3, GABA-A-R альфа 1, GFR альфа-4/GDNF R альфа-4, GABA-A-R альфа 2, GITR/TNFRSF18, GABA-A-R альфа 4, GITR лиганд/TNFSF18, GABA-A-R альфа 5, GLI-I, GABA-A-R альфа 6, GLI-2, GABA-A-R бета 1, GLP/EHMT1, GABA-A-R бета 2, GLP-I R, GABA-A-R бета 3, глюкагон, GABA-A-R гамма 2, глюкозамин-(N-ацетил)-6-сульфатаза/GNS, GABA-B-R2, GluR1, GAD1/GAD67, GluR2/3, GAD2/GAD65,

GluR2, GADD45 альфа, GluR3, GADD45 бета, Glut1, GADD45 гамма, Glut2, галектин-1, Glut3, галектин-2, Glut4, галектин-3, Glut5, галектин-3 ВР, глутаредоксин 1, галектин-4, глицин R, галектин-7, гликофорин А, галектин-8, глипикан 2, галектин-9, глипикан 3, GalNAc4S-6ST, глипикан 5, GAP-43, глипикан 6, GAPDH, GM-CSF, Gas1, GM-CSF R альфа, Gas6, GMF-бета, GASP-1/WFIKKNRP, gpl30, GASP-2/WFIKKN, гликогенфосфорилаза BB/GPBB, GATA-I, GPR15, GATA-2, GPR39, GATA-3, GPVI, GATA-4, GR/NR3C1, GATA-5, Gr-1/Ly-6G, GATA-6, гранулизин, GBL, гранзим А, GCNF/NR6A1, гранзим В, CXCL6/GCP-2, гранзим D, G-CSF, гранзим G, G-CSF R, гранзим H, GDF-I, GRASP, GDF-3 GRB2, GDF-5, Gremlin, GDF-6, GRO, GDF-7, CXCL1/GRO альфа, GDF-8, CXCL2/GRO бета, GDF-9, CXCL3/GRO гамма, GDF-11, гормон роста, GDF-15, гормон роста R, GDNF, GRP75/HSPA9B, GFAP, GSK-3 альфа/бета, GFI-I, GSK-3 альфа, GFR альфа-1/GDNF R альфа-1, GSK-3 бета, GFR альфа-2/GDNF R альфа-2, EZFIT, H2AX, гистидин, H60, HM74A, HAI-I, HMGA2, HAI-2, HMGB1, HAI-2A, TCF-2/HNF-1 бета, HAI-2B, HNF-3 бета/ФохА2, HAND1, HNF-4 альфа/NR2A1, HAPLN1, HNF-4 гамма/NR2A2, трипсин-подобная протеаза воздухоносных путей/НАТ, HO-1/HMOX1/HSP32, HB-EGF, HO-2/HMOX2, CCL 14a/HCC-1, HPRG, CCL14b/HCC-3, Hrk, CCL16/HCC-4, HRP-I, альфа HCG, HS6ST2, Hck, HSD-I, HCR/CRAM-A/B, HSD-2, HDGF, HSP 10/EPF, гемоглобин, HSP27, Heparin, HSP60, HES-1, HSP70, HES-4, HSP90, HGF, HTRA/протеаза Do, активатор HGF, HTRA1/PRSS11, HGF R, HtrA2/Omi, HIF-I альфа, HVEM/TNFRSF14, HIF-2 альфа, гиалуронан, HIN-1/секретоглобулин 3A1, 4-гидроксиноненал, Hip, CCL1/I-309/TCA-3, IL-10, cIAP (общая), IL-10 R альфа, cIAP-1/HIAP-2, IL-10 R бета, cIAP-2/HIAP-1, IL-11, IBSP/сиалопротеин II, EL-11 R альфа, ICAM-1/CD54, IL-12, ICAM-2/CD102, IL-12/IL-23 p40, ICAM-3/CD50, IL-12 R бета 1, ICAM-5, IL-12 R бета 2, ICAT, IL-13, ICOS, IL-13 R альфа 1, идуронат-2-сульфатаза/EOS, IL-13 R альфа 2, EFN, IL-15, IFN-альфа, IL-15 R альфа, IFN-альфа 1, IL-16, IFN-альфа 2, IL-17, IFN-альфа 4b, IL-17 R, IFN-альфа A, IL-17 RC, IFN-альфа B2, IL-17 RD, IFN-альфа C, IL-17B, IFN-альфа D, IL-17B R, IFN-альфа F, IL-17C, IFN-альфа G, IL-17D, IFN-альфа H2, IL-17E, IFN-альфа I, IL-17F, IFN-альфа J1, IL-18/IL-1F4, IFN-альфа K, IL-18 ВРa, IFN-альфа WA, IL-18 ВРc, IFN-альфа/бета R1, IL-18 ВРd, IFN-альфа/бета R2, IL-18 R альфа/IL-1 R5, IFN-бета, IL-18 R бета/IL-1 R7, IFN-гамма, IL-19, IFN-гамма R1, IL-20, IFN-гамма R2, IL-20 R альфа, IFN-омега, IL-20 R бета, IgE, IL-21, IGFBP-I, IL-21 R, IGFBP-2, IL-22, IGFBP-3, IL-22 R, IGFBP-4, IL-22BP, IGFBP-5, IL-23, IGFBP-6, IL-23 R, IGFBP-L1, IL-24,

IGFBP-гp1/IGFBP-7, IL-26/AK155, IGFBP-гPIO, IL-27, IGF-I, EL-28A, IGF-I R, IL-28B, IGF-II, IL-29/EFN-лямбда 1, IGF-II R, IL-31, IgG, EL-31 RA, IgM, IL-32 альфа, IGSF2, IL-33, IGSF4A/SynCAM, ILT2/CD85J, IGSF4B, ILT3/CD85k, IGSF8, ILT4/CD85d, IgY, ILT5/CD85a, IкВ-бета, ILT6/CD85е, ИКК альфа, Indian Hedgehog, ИКК эпсилон, INSRR, ЕКК гамма, инсулин, IL-1 альфа/IL-1F1, инсулин R/CD220, IL-1 бета/IL-1F2, проинсулин, IL-1га/IL-1F3, инсулизин/EDE, IL-1F5/FIL1 дельта, интегрин альфа 2/CD49b, IL-1F6/FIL1 эпсилон, интегрин альфа 3/CD49с, IL-1F7/FIL1 дзета, интегрин альфа 3 бета 1/VLA-3, IL-1F8/FIL1 эта, интегрин альфа 4/CD49d, IL-1F9/IL-1 H1, интегрин альфа 5/CD49е, IL-1F10/IL-1HY2, интегрин альфа 5 бета 1, IL-I RI, интегрин альфа 6/CD49f, IL-I RII, интегрин альфа 7, IL-I R3/IL-1 R AcP, интегрин альфа 9, IL-I R4/ST2, интегрин альфа E/CD103, IL-I R6/IL-1 R гp2, интегрин альфа L/CD1 Ia, IL-I R8, интегрин альфа L бета 2, IL-I R9, интегрин альфа M/CD1 Ib, IL-2, интегрин альфа M бета 2, IL-2 R альфа, интегрин альфа V/CD51, IL-2 R бета, интегрин альфа V бета 5, IL-3, интегрин альфа V бета 3, IL-3 R альфа, интегрин альфа V бета 6, IL-3 R бета, интегрин альфа XJCD1 Ic, IL-4, интегрин бета 1/CD29, IL-4 R, интегрин бета 2/CD18, IL-5, интегрин бета 3/CD61, IL-5 R альфа, интегрин бета 5, IL-6, интегрин бета 6, IL-6 R, интегрин бета 7, IL-7, CXCL10/EP-10/CRG-2, IL-7 R альфа/CD127, IRAK1, CXCR1/IL-8 RA, IRAK4, CXCR2/IL-8 RB, ERS-I, CXCL8/IL-8, Islet-1, IL-9, CXCL1 1/I-TAC, IL-9 R, Jagged 1, JAM-4/IGSF5, Jagged 2, JNK, JAM-A, JNK1/JNK2, JAM-B/VE-JAM, JNK1, JAM-C, JNK2, кининоген, калликреин 3/PSA, каниностагин, калликреин 4, KER/CD158, калликреин 5, KER2D1, калликреин 6/нейрозин, KIR2DL3, калликреин 7, KIR2DL4/CD158d, калликреин 8/нейропсин, KIR2DS4, калликреин 9, KIR3DL1, калликреин плазмы/KLKB1, KER3DL2, калликреин 10, Kirrel2, калликреин 11, KLF4, калликреин 12, KLF5, калликреин 13, KLF6, калликреин 14, Klotho, калликреин 15, Klotho бета, KC, KOR, Keap1, Kremen-1, KeI1, Kremen-2, KGF/FGF-7, LAG-3, LINGO-2, LAIR1, липин 2, LAIR2, липокалин-1, ламинин альфа 4, липокалин-2/NGAL, ламинин гамма 1,5-липоксигеназа, ламинин I, LXR альфа/NR1H3, ламинин S, LXR бета/NR1H2, ламинин-1, ливин, ламинин-5, LEX, LAMP, LMIR1/CD300A, лангерин, LMIR2/CD300с, LAR, LMIR3/CD300LF, латексин, LMIR5/CD300LB, лайилин, LMIR6/CD300LE, LBP, LMO2, LDL R, LOX-1/SR-E1, LECT2, LRH-1/NR5A2, LEDGF, LRIG1, Lefty, LRIG3, Lefty-1, LRP-I, Lefty-A, LRP-6, легумаин, LSEctin/CLEC4G, лептин, люмикан, лептин R, CXCL15/Lungkine, лейкотриен B4, XCL1/лимфотактин, лейкотриен B4 R1, лимфотоксин, LEF, лимфотоксин бета/TNFSF3, LIF

R альфа, лимфотоксин бета R/TNFRSF3, LIGHT/TNFSF14, Lyn, лимитин, Lyr, LIMPII/SR-B2, гомолог лизилоксидазы 2, LIN-28, LYVE-I, LINGO-I, альфа-2-макроглобулин, CXCL9/MIG, MAD2L1, мимекан, MAdCAM-1, миндин, MafB, минералокортикоид R/NR3C2, MafF, CCL3L1/MIP-1 альфа-изоформа LD78 бета, MafG, CCL3/MIP-1 альфа, MafK, CCL4L1/LAG-1, MAG/Siglec-4-a, CCL4/MIP-1 бета, MANF, CCL15/MEP-1 дельта, MAP2, CCL9/10/MIP-1 гамма, MAPK, MIP-2, марапсин/панкреазин, CCL19/MIP-3 бета, MARCKS, CCL20/MIP-3 альфа, MARCO, MIP-I, Mash1, MIP-II, матрилин-2, MIP-III, матрилин-3, MIS/AMH, матрилин-4, MIS RII, матриптаза/ST14, MIXL1, MBL, МКК3/МКК6, MBL-2, МКК3, меланокортин 3R/MC3R, МКК4, МСАМ/CD146, МКК6, МСК-2, МКК7, McI-I, МКР-3, МСР-6, MLH-I, CCL2/МСР-1, MLK4 альфа, МСР-11, MMP, CCL8/МСР-2, MMP-1, CCL7/МСР-3/MARC, MMP-2, CCL13/МСР-4, MMP-3, CCL12/МСР-5, MMP-7, M-CSF, MMP-8, M-CSF R, MMP-9, МСV-типа II, MMP-Ю, MD-I, MMP-I 1, MD-2, MMP-12, CCL22/MDC, MMP-13, MDL-1/CLEC5A, MMP-14, MDM2, MMP-15, MEA-I, MMP-16/MT3-MMP, MEK1/MEK2, MMP-24/MT5-MMP, MEK1, MMP-25/MT6-MMP, MEK2, MMP-26, мелузин, MMR, MEPE, MOG, меприн-альфа, CCL23/MPIF-1, меприн-бета, M-Ras/R-Ras3, Mer, Mrel 1, мезотелин, метеорин MRP1, MSK1/MSK2, метионинаминопептидаза 1, MSK1, метионинаминопептидаза, MSK2, метионинаминопептидаза 2, MSP, MFG-E8, MSP R/Ron, MFRP, Mug, MgcRacGAP, MULT-I, MGL2, Musashi-1, MGMT, Musashi-2, MIA, MuSK, МІСА, ДНК-гликозилаза MutY, МІСВ, MyD88, МІСL/CLEC12A, миелопероксидаза, микроглобулин бета 2, миокардин, мидкин, миоцилин, MIF, миоглобин, NAIP NGFI-B гамма/NR4A3, Nanog, NgR2/NgRH1, CXCL7/NAP-2, NgR3/NgRH2, Nbsl, нидоген-1/энтактин, NCAM-1/CD56, нидоген-2, NCAM-L1, синтаза оксида азота, нектин-1, нитротирозин, нектин-2/CD1 12, NKG2A, нектин-3, NKG2C, нектин-4, NKG2D, неогенин, NKp30, неприлизин/CD10, NKp44, неприлизин-2/MMEL1/MMEL2, NKp46/NCR1, нестин, NKp80/KLRF1, NETO2, NKX2.5, нетрин-1, NMDA R, NR1 субъединица, нетрин-2, NMDA R, NR2A субъединица, нетрин-4, NMDA R, NR2B субъединица, нетрин-Gla, NMDA R, NR2C субъединица, нетрин-G2a, N-Me-6,7-diOH-TIQ, нейрегулин-1/NRG1, Nodal, нейрегулин-3/NRG3, Noggin, нейритин, рецептор Nogo, NeuroD1, Nogo-A, нейрофасцин, НОМО, нейрогенин-1, Nore, нейрогенин-2, норрин, нейрогенин-3, eNOS, нейролизин, iNOS, нейрофизин II, nNOS, нейропилин-1, Notch-1, нейропилин-2, Notch-2, нейропозэтин, Notch-3, нейротримин, Notch-4, нейртурин, NOV/CCN3, NFAM1, NRAGE, NF-H, NrCAM, NFkB1,

NRL, NFkB2, NT-3, NF-L, NT-4, NF-M, NTB-A/SLAMF6, NG2/MCSP, NTH1, NGF R/TNFRSF16, нуклеостемин, бета-NGF, Nurr-1/NR4A2, NGFI-B альфа/NR4A1, OAS2, орексин В, OBCAM, OSCAR, OCAM, OSF-2/периостин, OCIL/CLEC2d, онкостатинМ/OSM, OCILRP2/CLEC21, OSM R бета, Oст-3/4, остеоактивин/GPNMB, OGG1, остеоадгерин, Olig 1, 2, 3, остеокальцин, Olig1, остеокрин, Olig2, остеопонтин, Olig3, остеопротегерин/TNFRSF1 IB, олигодендроцитный маркер 01, Oтх2, олигодендроцитный маркер 04, OV-6, OMgp, OX40/TNFRSF4, оптицин, OX40 лиганд/TNFSF4, орексин А, OAS2, орексин В, OBCAM, OSCAR, OCAM, OSF-2/периостин, OCIL/CLEC2d, онкостатинМ/OSM, OCILRP2/CLEC2i, OSM R бета, Oст-3/4, остеоактивин/GPNMB, OGG1, остеоадгерин, Olig 1, 2, 3, остеокальцин, Olig1, остеокрин, Olig2, остеопонтин, Olig3, остеопротегерин/TNFRSF1 IB, олигодендроцитный маркер 01, Oтх2, олигодендроцитный маркер 04, OV-6, OMgp, OX40/TNFRSF4, оптицин, OX40 лиганд/TNFSF4, орексин А, RACK1, Ret, Rad1, REV-ERB альфа/NR1D1, Rad17, REV-ERB бета/NR1D2, Rad51, Rex-1, Rae-1, RGM-A, Rae-1 альфа, RGM-B, Rae-1 бета, RGM-C, Rae-1 дельта, Rheb, Rae-1 эпсилон, рибосомальный белок S6, Rae-1 гамма, RIP1, Raf-1, ROBO1, RAGE, ROBO2, Ra1A/Ra1B, ROBO3, Ra1A, ROBO4, Ra1B, ROR/NR1F1-3 (общий), RANK/TNFRSF1 1A, ROR альфа/NR1F1, CCL5/RANTES, ROR гамма/NR1F3, Rap1A/B, RTK-подобный «сиротский» рецептор 1/ROR1, RAR альфа/NR1B1, RTK-подобный «сиротский» рецептор 2/ROR2, RAR бета/NR1B2, RP105, RAR гамма/NR1B3, RP A2, Ras, RSK (общий), RBP4, RSK1/RSK2, RECK, RSK1, Reg 2/PAP, RSK2, Reg I, RSK3, Reg II, RSK4, Reg III, R-спондин 1, Reg IIa, R-спондин 2, Reg IV, R-спондин 3, релаксин-1, RUNX1/CBFA2, релаксин-2, RUNX2/CBFA1, релаксин-3, RUNX3/CBFA3, RELM альфа, RXR альфа/NR2B1, RELM бета, RXR бета/NR2B2, RELT/TNFRSF19L, RXR гамма/NR2B3, резистин, S100A10, SLITRK5, S100A8, SLPI, S100A9, SMAC/Diablo, S100B, Smad1, S100P, Smad2, SALL1, Smad3, дельта-саркогликан, Smad4, Sca-1/Ly6, Smad5, SCD-I, Smad7, SCF, Smad8, SCFR/c-kit, SMC1, SCGF, альфа-гладкомышечный актин, SCL/Tall, SMUG1, SCP3/SYCP3, Snail, CXCL12/SDF-1, натриево-кальциевый обменник 1, SDNSF/MCFD2, Soggy-1, альфа-секретаза, Sonic Hedgehog, гамма-секретаза, S или CS1, бета-секретаза, S или CS3, E-селектин, сортилин, L-селектин, SOST, P-селектин, SOX1, семафорин 3A, SOX2, семафорин 3C, SOX3, семафорин 3E, SOX7, семафорин 3F, SOX9, семафорин 6A, SOX10, семафорин 6B, SOX 17, семафорин 6C, SOX21 семафорин 6D, SPARC, семафорин 7 A, SPARC-подобный фактор 1, сепараза,

SP-D, серин/треониновой фосфатазы субстрат I, спинезин, серпин A1, F-спондин, серпин A3, SR-AI/MSR, серпин A4/каллистатин, Src, серпин A5/ингибитор белка C, SREC-I/SR-F1, серпин A8/ангиотензиноген, SREC-II, серпин B5, SSEA-I, серпин C1/антитромбин-III, SSEA-3, серпин D1/гепариновый кофактор II, SSEA-4, серпин E1/PAI-1, ST7/LRP12, серпин E2, стабилин-1, серпин F1, стабилин-2, серпин F2, станниокальцин 1, серпин G1/C1-ингибитор, станниокальцин 2, серпин 12, STAT1, сывороточный амилоид A1, STAT2, SF-1/NR5A1, STAT3, SGK, STAT4, SHBG, STAT5a/b, SHIP, STAT5a, SHP/NR0B2, STAT5b, SHP-I, STATE, SHP-2, VE-статины, SIGIRR, Stella/Dppa3, Siglec-2/CD22, STRO-I, Siglec-3/CD33, вещество P, Siglec-5, сульфамидаза/SGSH, Siglec-6, сульфатаза-модифицирующий фактор 1/SUMF1, Siglec-7, сульфатаза-модифицирующий фактор 2/SUMF2, Siglec-9, SUMO1, Siglec-10, SUMO2/3/4, Siglec-11, SUMO3, Siglec-F, супероксиддисмутаза, SIGNR1/CD209, супероксиддисмутаза-1/Cu[0099]--Zn SOD, SIGNR4, супероксиддисмутаза-2/Mn-SOD, SIRP бета 1, супероксиддисмутаза-3/EC-SOD, SKI, сурвивин, SLAM/CD150, синапсин I, транспозаза «спящей красавицы», синдекан-I/CD 138, Slit3, синдекан-2, SLITRK1, синдекан-3, SLITRK2, синдекан-4, SLITRK4, TAC1/TNFRSF13B, TMEFF 1/томорегулин-1, TAO2, TMEFF2, TAPP1, TNF-альфа/TNFSF1A, CCL17/TARC, TNF-бета/TNFSF1B, Тау, TNF R1/TNFRSF1A, TC21/R-Ras2, TNF RII/TNFRSF1B, TCAM-I, TOR, TCCR/WSX-1, TP-I, TC-PTP, TP63/TP73L, TDG, TR, CCL25/TECK, TR альфа/NR1A1, тенасцин C, TR бета 1/NR1A2, тенасцин R, TR2/NR2C1, TER-119, TR4/NR2C2, TERT, TRA-1-85, тестикан 1/SPOCK1, TRADD, тестикан 2/SPOCK2, TRAF-1, тестикан 3/SPOCK3, TRAF-2, TFPI, TRAF-3, TFPI-2, TRAF-4, TGF-альфа, TRAF-6, TGF-бета, TRAIL/TNFSF10, TGF-бета 1, TRAIL R1/TNFRSF10A, LAP (TGF-бета 1), TRAIL R2/TNFRSF10B, латентный TGF-бета 1, TRAIL R3/TNFRSF10C, TGF-бета 1.2, TRAIL R4/TNFRSF10D, TGF-бета 2, TRANCE/TNFSF1 1, TGF-бета 3, TfR (трансферрин R), TGF-бета 5, апотрансферрин, латентный TGF-бета bp1, холотрансферрин, латентный TGF-бета bp2, траппин-2/элафин, латентный TGF-бета bp4, TREM-1, TGF-бета R1/ALK-5, TREM-2, TGF-бета R11, TREM-3, TGF-бета RIIb, TREML1/TLT-1, TGF-бета RIII, TRF-I, термолизин, TRF-2, тиоредоксин-1, TRH-расщепляющий эктофермент/TRHDE, тиоредоксин-2, TRIMS, тиоредоксин-80, трипептидилпептидаза I, тиоредоксин-подобный фактор 5/TRP14, TrkA, THOP1, TrkB, тромбомодулин/CD141, TrkC, тромбopoэтин, TROP-2, тромбopoэтин R, пептид 3 тропонина I, тромбоспондин-1, тропонин T, тромбоспондин-2,

TROY/TNFRSF 19, тромбоспондин-4, трипсин 1, тимопоэтин, трипсин 2/PRSS2, тимусный хемокин-1, трипсин 3/PRSS3, Tie-1, триптаза-5/Prss32, Tie-2, триптаза альфа/TPS1, TIM-I/KIM-I/HAVCR, триптаза бета-1/MCPT-7, TIM-2, триптаза бета-2/TPSB2, TIM-3, триптаза эпсилон/BSSP-4, TIM-4, триптаза гамма-1/TPSG1, TIM-5, триптофангидроксилаза, TIM-6, TSC22, TIMP-1, TSG, TIMP-2, TSG-6, TIMP-3, TSK, TIMP-4, TSLP, TL1A/TNFSF15, TSLP R, TLR1, TSP50, TLR2, бета-III тубулин, TLR3, TWEAK/TNFSF12, TLR4, TWEAK R/TNFRSF 12, TLR5, Tyk2, TLR6, фосфотирозин, TLR9, тирозингидроксилаза, TLX/NR2E1, тирозинфосфатазный субстрат I, убиквитин, UNC5H3, Ugi, UNC5H4, UGRP1, UNG, ULBP-I, uPA, ULBP-2, uPAR, ULBP-3, URB, UNC5H1, UVDE, UNC5H2, ваннилоид R1, VEGF R, VASA, VEGF R1/Flt-1, вазохибин, VEGF R2/KDR/Flk-1, вазорин, VEGF R3/FU-4, вазостатин, версикан, Vav-1, VG5Q, VCAM-1, VHR, VDR/NR1H1, виментин, VEGF, витронектин, VEGF-B, VLDLR, VEGF-C, vWF-A2, VEGF-D, синуклеин-альфа, Ku70, WASP, Wnt-7b, WIF-I, Wnt-8a WISP-1/CCN4, Wnt-8b, WNK1, Wnt-9a, Wnt-1, Wnt-9b, Wnt-3a, Wnt-10a, Wnt-4, Wnt-10b, Wnt-5a, Wnt-11, Wnt-5b, wnvNS3, Wnt7a, XCR1, XPE/DDB1, XEDAR, XPE/DDB2, Xg, XPF, XIAP, XPG, XPA, XPV, XPD, XRCC1, Yes, YY1, EphA4.

Особенный интерес представляют различные ионные каналы человека. Неограничивающие примеры включают В субъединицу 5-гидрокситриптаминового 3 рецептора, предшественника 5-гидрокситриптаминового 3 рецептора, субъединицу С 5-гидрокситриптаминового рецептора 3, белок AAD 14, предшественник альфа-субъединицы белка ацетилхолинового рецептора, предшественник бета-субъединицы белка ацетилхолинового рецептора, предшественник дельта-субъединицы белка ацетилхолинового рецептора, предшественник эпсилон-субъединицы белка ацетилхолинового рецептора, предшественник гамма-субъединица белка ацетилхолинового рецептора, сплайс-вариант b чувствительного к кислой среде ионного канала 3, сплайс-вариант с чувствительного к кислой среде ионного канала 3, чувствительный к кислой среде ионный канал 4, АДФ-рибозопирофосфатазу, митохондриальный предшественник, альфа1 А-потенциал-зависимый кальциевый канал, амилорид-чувствительный катионный канал 1, нейрональный, амилорид-чувствительный катионный канал 2, нейрональный амилорид-чувствительный катионный канал 4, изоформу 2, амилорид-чувствительный натриевый канал, альфа-субъединицу амилорид-чувствительного натриевого канала, бета-субъединицу амилорид-чувствительного натриевого канала, дельта-субъединицу

амилорид-чувствительного натриевого канала, гамма-субъединицу амилорид-чувствительного натриевого канала, аннексин A7, Apical-подобный белок, АТФ-чувствительный калиевый канал входящего выпрямления тока 1, АТФ-чувствительный калиевый канал входящего выпрямления тока 10, АТФ-чувствительный калиевый канал входящего выпрямления тока 11, АТФ-чувствительный калиевый канал входящего выпрямления тока 14, АТФ-чувствительный калиевый канал входящего выпрямления тока 15, альфа12.2 субъединицу кальциевого канала, альфа12.2 субъединицу кальциевого канала, альфа1E субъединицу кальциевого канала, сплайс-вариант дельта19 дельта40 дельта46, альфа субъединицу 1 активируемого кальцием калиевого канала, бета-субъединицу 1 активируемого кальцием калиевого канала, бета-субъединицу 2 активируемого кальцием калиевого канала, бета-субъединицу 3 активируемого кальцием калиевого канала, кальций-зависимый канал переноса ионов хлора-1, катионный канал TRPM4B, CDNA FLJ90453 fis, клон NT2RP3001542, с высокой степенью сходства с доменом тетрамеризации калиевого канала, содержащий белок 6, CDNA FLJ90663 fis, клон PLACE 1005031, с высокой степенью сходства с белком 5 внутриклеточного канала ионов хлора, бета-субъединицу CGMP-зависимого катионного канала, белок канала ионов хлора, белок 2 канала ионов хлора, белок 3 канала ионов хлора, белок 4 канала ионов хлора, белок 5 канала ионов хлора, белок 6 канала ионов хлора, белок канала ионов хлора C1C-Ka, белок канала ионов хлора C1C-Kb, белок канала ионов хлора, белок 6 внутриклеточный канал ионов хлора скелетной мышцы, белок 3 внутриклеточного канала ионов хлора, белок 4 внутриклеточного канала ионов хлора, белок 5 внутриклеточного канала ионов хлора, белок CHRNA3, белок Clcn3e, белок CLCNKB, белок CNGA4, куллин-5, зависимый от циклической GMP калиевый канал, зависимый от циклических нуклеотидов катионный канал 4, зависимый от циклических нуклеотидов катионный канал альфа 3, зависимый от циклических нуклеотидов катионный канал бета 3, зависимый от циклических нуклеотидов канал нейронов рецепторов обоняния, регулятор трансмембранной проводимости, вызывающий муковисцидоз, тяжелая цепь В-245 цитохрома, предшественник альфа-2/дельта субъединиц дигидропиридин-чувствительного кальциевого канала L-типа, предшественник FXYD домен-содержащего регулятора транспорта ионов 3, предшественник FXYD домен-содержащего регулятора транспорта ионов 5, предшественник FXYD домен-содержащего регулятора транспорта

ионов 6, предшественник FX_{YD} домен-содержащего регулятора транспорта ионов 7, предшественник FX_{YD} домен-содержащего регулятора транспорта ионов 8, G-белок-активируемый калиевый канал входящего выпрямления тока 1, G-белок-активируемый калиевый канал входящего выпрямления тока 2, G-белок-активируемый калиевый канал входящего выпрямления тока 3, G-белок-активируемый калиевый канал входящего выпрямления тока 4, предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты альфа-1, предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты альфа-2 предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты альфа-3, предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты альфа-4, предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты альфа-5, предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты альфа-6, предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты бета-1, предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты бета-2, предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты бета-3, предшественник дельта-субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты, предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты эпсилон, предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты гамма-1, предшественник субъединицы рецептора гамма-аминомасляной кислоты гамма-3, предшественник субъединицы рецептора пи гамма-аминомасляной кислоты, предшественник субъединицы рецептора rho-1 гамма-аминомасляной кислоты, предшественник субъединицы рецептора rho-2 гамма-аминомасляной кислоты, предшественник субъединицы рецептора тета гамма-аминомасляной кислоты, каинатный рецептор GluR6, предшественник глутаматного рецептора 1, предшественник глутаматного рецептора 2, предшественник глутаматного рецептора 3, предшественник глутаматного рецептора 4, глутаматный рецептор 7, глутаматный рецептор В, предшественник субъединицы глутаматного рецептора дельта-1, предшественник ионотропного каинатного глутаматного рецептора 1, предшественник ионотропного каинатного глутаматного рецептора 2, предшественник ионотропного каинатного глутаматного рецептора 3, предшественник ионотропного каинатного глутаматного рецептора 4, предшественник ионотропного каинатного глутаматного рецептора 5, предшественник субъединицы 3А глутаматного [NMDA] рецептора, предшественник субъединицы 3В глутаматного [NMDA]

рецептора, предшественник субъединицы эpsilon 1 глутаматного [NMDA] рецептора, предшественник субъединицы эpsilon 2 глутаматного [NMDA] рецептора, предшественник субъединицы эpsilon 4 глутаматного [NMDA] рецептора, предшественник субъединицы дзета 1 глутаматного [NMDA] рецептора, предшественник цепи альфа-1 глицинового рецептора, предшественник цепи альфа-2 глицинового рецептора, предшественник цепи альфа-3 глицинового рецептора, предшественник бета-цепи глицинового рецептора, субъединицу 1 рибонуклеопротеидного комплекса H/ACA, высокоаффинную бета-субъединицу рецептора иммуноглобулина эpsilon, гипотетический белок DKFZp31310334, гипотетический белок DKFZp761M1724, гипотетический белок FLJ12242, гипотетический белок FLJ14389, гипотетический белок FLJ14798, гипотетический белок FLJ14995, гипотетический белок FLJ16180, гипотетический белок FLJ16802, гипотетический белок FLJ32069, гипотетический белок FLJ37401, гипотетический белок FLJ38750, гипотетический белок FLJ40162, гипотетический белок FLJ41415, гипотетический белок FLJ90576, гипотетический белок FLJ90590, гипотетический белок FLJ90622, гипотетический белок KCTD15, гипотетический белок MGC15619, инозитол-1,4,5-трифосфатный рецептор 1-го типа, инозитол-1,4,5-трифосфатный рецептор 2-го типа, инозитол-1,4,5-трифосфатный рецептор 3-го типа, белок 4 активируемого кальцием калиевого канала со средней проводимостью, калиевый канал входящего выпрямления тока 13, калиевый канал входящего выпрямления тока 16, калиевый канал входящего выпрямления тока 4, отрицательный регулятор K(+) канала входящего выпрямления тока Kir2.2v, субъединицу KA2a кианатного рецептора, белок KCNH5, белок KCTD 17, белок KCTD2, ассоциированный с кератиноцитами трансмембранный белок 1, взаимодействующий с Kv каналом белок 4, мелестатин 1, мембранный белок MLC1, белок MGC 15619, муколипин-1, муколипин-2, муколипин-3, ассоциированный с множественной лекарственной устойчивостью белок 4, предшественник субъединицы 2C N-метил-D-аспаратного рецептора, гомолог НАДФН-оксидазы 1, Nav1.5, предшественник субъединицы альфа-10 нейронального белка ацетилхолинового рецептора, предшественник субъединицы альфа-2 нейронального белка ацетилхолинового рецептора, предшественник субъединицы альфа-3 нейронального белка ацетилхолинового рецептора, предшественник субъединицы альфа-4 нейронального белка ацетилхолинового рецептора, предшественник субъединицы альфа-5 нейронального белка ацетилхолинового рецептора,

предшественник субъединицы альфа-6 нейронального белка ацетилхолинового рецептора, предшественник субъединицы альфа-7 нейронального белка ацетилхолинового рецептора, предшественник субъединицы альфа-9 нейронального белка ацетилхолинового рецептора, предшественник субъединицы бета-2 нейронального белка ацетилхолинового рецептора, предшественник субъединицы бета-3 нейронального белка ацетилхолинового рецептора, предшественник субъединицы бета-4 нейронального белка ацетилхолинового рецептора, субъединица альфа-2D нейронального потенциал-зависимого кальциевого канала, белок 1 пуринергического рецептора P2X, белок 2 пуринергического рецептора P2X, белок 3 пуринергического рецептора P2X, белок 4 пуринергического рецептора P2X, белок 5 пуринергического рецептора P2X, белок 6 пуринергического рецептора P2X, белок 7 пуринергического рецептора P2X, калиевый канал клеток поджелудочной железы TALK-Ib, калиевый канал клеток поджелудочной железы TALK-Ic, калиевый канал клеток поджелудочной железы TALK-Id, предшественник фосфолемина, плазмолипин, связанный с поликистозным заболеванием почек белок 2, подобный фактору поликистозного заболевания почек белок 1, подобный фактору 2 поликистозного заболевания почек белок 2, предшественник белка, связанного с поликистозным заболеванием почек и рецептором к слизистой оболочки яйца, полицистин-2, регулятор калиевого канала, член 1 подсемейства К калиевого канала, член 10 подсемейства К калиевого канала, член 12 подсемейства К калиевого канала, член 13 подсемейства К калиевого канала, член 15 подсемейства К калиевого канала, член 16 подсемейства К калиевого канала, член 17 подсемейства К калиевого канала, член 2 подсемейства К калиевого канала, член 3 подсемейства К калиевого канала, член 4 подсемейства К калиевого канала, член 5 подсемейства К калиевого канала, член 6 подсемейства К калиевого канала, член 7 подсемейства К калиевого канала, член 9 подсемейства К калиевого канала, домен тетрамеризации калиевого канала, содержащий белок 3, домен тетрамеризации калиевого канала, содержащий белок 12, домен тетрамеризации калиевого канала, содержащий белок 14, домен тетрамеризации калиевого канала, содержащий белок 2, домен тетрамеризации калиевого канала, содержащий белок 4, домен тетрамеризации калиевого канала, содержащий белок 5, домен тетрамеризации калиевого канала, содержащий белок 10, домен тетрамеризации калиевого канала, содержащий белок 13, домен тетрамеризации калиевого канала, содержащий белок 1, член 1 подсемейства А

активируемый гиперполяризацией управляемый циклическими нуклеотидами канал 2, калий/натриевый активируемый гиперполяризацией управляемый циклическими нуклеотидами канал 3, калий/натриевый активируемый гиперполяризацией управляемый циклическими нуклеотидами канал 4, возможный гомолог субъединицы TOM40 митохондриального рецептора импорта, изоформа А пуринергического рецептора P2X5, предполагаемый белок ионного потенциал-зависимого канала с 4 повторами, предполагаемый белок 7 канала ионов хлора, предполагаемый белок цианатного рецептора GluR6, предполагаемый вариант 1 белка CATSPER2 ионного канала, предполагаемый вариант 2 белка CATSPER2 ионного канала, предполагаемый вариант 3 белка CATSPER2 ионного канала, предполагаемый вариант 1 белка регулятора калиевых каналов, предполагаемую тирозиновую протеинфосфатазу TPTE, белок 1 рецептора рианодина, белок 2 рецептора рианодина, белок 3 рецептора рианодина, SH3 KBP1-связывающий белок 1, короткий белок канала транзиентного рецепторного потенциала 1, короткий белок канала транзиентного рецепторного потенциала 4, короткий белок канала транзиентного рецепторного потенциала 5, короткий белок канала транзиентного рецепторного потенциала 6, короткий белок канала транзиентного рецепторного потенциала 7, белок с малой проводимостью активируемого кальцием калиевого канала 1, белок с малой проводимостью активируемого кальцием калиевого канала 2, изоформа b, белок с малой проводимостью активируемого кальцием калиевого канала 3, изоформа b, белок с малой проводимостью активируемого кальцием калиевого канала SK2, белок с малой проводимостью активируемого кальцием калиевого канала SK3, натриевого канала, предшественник субъединицы бета-1 натриевого канала, альфа-субъединицу белка II типа натриевого канала, альфа-субъединицу белка III типа натриевого канала, альфа-субъединицу белка IV типа натриевого канала, альфа-субъединицу белка IX типа натриевого канала, альфа-субъединицу белка V типа натриевого канала, альфа-субъединицу белка VII типа натриевого канала, альфа-субъединицу белка VIII типа натриевого канала, альфа-субъединицу белка X типа натриевого канала, альфа-субъединицу белка XI типа натриевого канала, активируемый натрием и хлором АТФ-чувствительный калиевый канал, гамма-цепь натрий/калиевой транспортной АТФазы, катионный канал спермы 1, катионный канал спермы 2, изоформа 4, синтаксин-1B1, член 1 подсемейства А катионного канала транзиентного рецепторного потенциала, член 2 подсемейства М катионного канала

транзиентного рецепторного потенциала, член 3 подсемейства М катионного канала
транзиентного рецепторного потенциала, член 6 подсемейства М катионного канала
транзиентного рецепторного потенциала, член 7 подсемейства М катионного канала
транзиентного рецепторного потенциала, член 1 подсемейства V катионного канала
транзиентного рецепторного потенциала, член 2 подсемейства V катионного канала
транзиентного рецепторного потенциала, член 3 подсемейства V катионного канала
транзиентного рецепторного потенциала, член 4 подсемейства V катионного канала
транзиентного рецепторного потенциала, член 5 подсемейства V катионного канала
транзиентного рецепторного потенциала, член 6 подсемейства V катионного канала
транзиентного рецепторного потенциала, эпсилон-сплайс-вариант белка 4 канала
транзиентного рецепторного потенциала, дзета-сплайс-вариант белка 4 канала
транзиентного рецепторного потенциала, гамма-сплайс-вариант белка 7 канала
транзиентного рецепторного потенциала, фактор некроза опухоли, альфа-индуцируемый
белок 1, эндотелиальный, белок 2 двухпорового кальциевого канала, белок VDAC4, белок
Kv3.2b потенциал-зависимого калиевого канала, бета1B субъединицу потенциал-
зависимого натриевого канала, потенциал-зависимый анионный канал, белок 2 потенциал-
зависимого анионного канала, белок 1 потенциал-зависимого анион-селективного канала,
белок 2 потенциал-зависимого анион-селективного канала, белок 3 потенциал-зависимого
анион-селективного канала, гамма-1 субъединицу потенциал-зависимого кальциевого
канала, гамма-2 субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала, гамма-3
субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала, гамма-4 субъединицу потенциал-
зависимого кальциевого канала, гамма-5 субъединицу потенциал-зависимого кальциевого
канала, гамма-6 субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала, гамма-7
субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала, гамма-8 субъединицу потенциал-
зависимого кальциевого канала, альфа-1C субъединицу потенциал-зависимого кальциевого
канала L-типа, альфа-1D субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала L-типа,
альфа-1S субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала L-типа, бета-1
субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала L-типа, бета-2 субъединицу
потенциал-зависимого кальциевого канала L-типа, бета-3 субъединицу потенциал-
зависимого кальциевого канала L-типа, бета-4 субъединицу потенциал-зависимого
кальциевого канала L-типа, альфа-1B субъединицу потенциал-зависимого кальциевого

канала N-типа, альфа-1А субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала P/Q-типа, альфа-1Е субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала R-типа, альфа-1G субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала T-типа, альфа-1H субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала T-типа, альфа-1I субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала T-типа, альфа-1 субъединицу потенциал-зависимого кальциевого канала L-типа, бета-1 субъединицу потенциал-зависимого калиевого канала, бета-2 субъединицу потенциал-зависимого калиевого канала, бета-3 субъединицу потенциал-зависимого калиевого канала, KCNA7 потенциал-зависимого калиевого канала. Также многообещающей целью является семейство Nav1.x человеческих потенциал-зависимых натриевых каналов. Это семейство включает, например, каналы Nav1.6 и Nav1.8.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления терапевтический белок может представлять собой сопряженный с G-белком рецептор (GPCR). Иллюстративные GPCR включают без ограничения родосин-подобные рецепторы класса А, такие как мускариновый (Muse.) ацетилхолиновый позвоночных 1 типа, Muse, ацетилхолиновый позвоночных 2 типа, Muse, ацетилхолиновый позвоночных 3 типа, Muse, ацетилхолиновый позвоночных 4 типа; адренорецепторы (альфа-адренорецепторы 1 типа, альфа-адренорецепторы 2 типа, бета-адренорецепторы 1 типа, бета-адренорецепторы 2 типа, бета-адренорецепторы 3 типа, допаминовый позвоночных 1 типа, допаминовый позвоночных 2 типа, допаминовый позвоночных 3 типа, допаминовый позвоночных 4 типа, гистаминовый 1 типа, гистаминовый 2 типа, гистаминовый 3 типа, гистаминовый 4 типа, серотониновый 1 типа, серотониновый 2 типа, серотониновый 3 типа, серотониновый 4 типа, серотониновый 5 типа, серотониновый 6 типа, серотониновый 7 типа, серотониновый 8 типа, другие типы серотониновых рецепторов, следового амина, ангиотензиновый 1 типа, ангиотензиновый 2 типа, бомбезиновый, брадикининовый, C5a анафилотоксина, Fmet-leu-phe, APJ-подобный, интерлейкина-8 типа А, интерлейкина-8 типа В, интерлейкина-8 других типов, C--С хемокиновый 1-11 типа и других типов, C--Х--С хемокиновый (2-6 и других типов), C--Х3-С хемокиновый, холецистокининовый ССК, ССК типа А, ССК типа В, ССК других типов, эндотелиновый, меланокортиновый (меланоцит-стимулирующего гормона, адренокортикотропного гормона, гормона меланокортин), антигена Duffy, пролактин-высвобождающего пептида (GPR10), нейропептида Y (1-7 типа), нейропептида Y, нейропептида Y других типов, нейротензина, опиоидные (типа D, K, M, X),

соматостатиновые (1-5 типа), тахикининовые (вещества Р (NK1), вещества К (NK2), нейромедина К (NK3), тахикинин-подобного фактора 1, тахикинин-подобного фактора 2, вазопрессин/вазотоциновые (1-2 типа), вазотоциновые, окситоцин/мезотоциновые, конопрессинового, галанин-подобного фактора, рецептор фактора, подобного протеиназа-активирующему, орексинов и нейропептидов FF.QRFP, подобный хемокиновому рецептору, рецептор нейромедин U-подобного фактора (нейромедина U, PRXamide), белковых гормонов (фолликулостимулирующего гормона, лютропин-хориогонадотропного гормона, тиротропина, гонадотропина I типа, гонадотропина II типа), (род)опсина, родопсина позвоночных (1-5 типа), родопсина позвоночных 5 типа, родопсина членистоногих, родопсина членистоногих 1 типа, родопсина членистоногих 2 типа, родопсина членистоногих 3 типа, родопсина моллюсков, родопсина, обонятельные (семейства II обонятельных рецепторов 1-13 типа), простагландина (простагландина E2 подтипа подтипа EP1, простагландина E2/D2 подтипа EP2, простагландина E2 подтипа EP3, простагландина E2 подтипа EP4, простагландина F2-альфа, простаглицина, тромбоксана, аденозина 1-3 типа, пуринергические рецепторы, пуринергический рецептор P2RY1-4,6,1 1 GPR91, пуринергический рецептор P2RY5,8,9,10 GPR35,92,174, пуринергический рецептор P2RY12-14 GPR87 (УДФ-глюкозы), каннабиноида, тромбоцит-активирующего фактора, гонадотропин-высвобождающего гормона, гонадотропин-высвобождающего гормона I типа, гонадотропин-высвобождающего гормона II типа, фактора, подобного адипокинетическому гормону, коразонина, тиротропин-высвобождающего гормона и секретагога, тиротропин-высвобождающего, гормона роста секретагог, фактора, подобного гормону роста секретагог, запускающего линьку гормона (ETHR), мелатонина, лизосфинголипида и LPA (EDG), сфингозин 1-фосфата Edg-1, лизофосфатидиловой кислоты Edg-2, сфингозин 1-фосфата Edg-3, лизофосфатидиловой кислоты Edg-4, сфингозин 1-фосфата Edg-5, сфингозин 1-фосфата Edg-6, лизофосфатидиловой кислоты Edg-7, сфингозин 1-фосфата Edg-8, другой рецептор Edg лейкотриена B4, рецептор BLT1 лейкотриена B4, рецептор BLT2 лейкотриена B4, сиротский рецептор класса/другого типа, предполагаемых нейротрансмиттеров, SREB, протоонкогена Mas и Mas-родственных факторов (MRG), GPR45-подобного, цистеинил-лейкотриена, сопряженного с G-белком рецептор желчных кислот, рецептор свободных кислот (GP40, GP41, GP43), секретиноподобного фактора класса B, кальцитонина, кортикотропин-релизинг фактора,

желудочного ингибиторного пептида, глюкагоана, гормона высвобождающего гормон роста, паратиреоидного гормона, PACAP, секретина, вазоактивного интестинального полипептида, латрофилина, латрофилина 1 типа, латрофилина 2 типа, латрофилина 3 типа, ETL рецепторы, мозгоспецифичного ингибитора ангиогенеза (BAI), Methuselah-подобных белков (MTH), кадгерина EGF LAG (CELSR), сверхбольшой сопряженный с G-белком рецептор, метаботропного глутамата класса C/феромона, метаботропного глутамата группы I-III, фактора, подобной кальций-чувствительному, внеклеточного кальций-чувствительного фактора, феромона, фактора, подобного кальций-чувствительному, другого типа, рецепторы предполагаемых феромонов, GABA-B, GABA-B 1 подтипа, GABA-B 2 подтипа, GABA-B-подобного фактора, сиротского GPCR5, сиротского GPCR6, белков гена bride of sevenless (BOSS), рецепторы вкуса (T1R), грибного феромона класса D, фактора, подобного фактору грибного феромона A (STE2.STE3), фактора, подобного грибному феромону класса B (BAR,BBR,RCB,PRA), цАМФ-рецепторы класса E, белков глазного альбинизма, белков семейства Frizzled/Smoothed, фактора frizzled группы A (Fz 1, и 2, и 4, и 5, и 7-9), фактора frizzled группы B (Fz 3 и 6), фактора frizzled группы C (другие), сошниково-носовые рецепторы, хеморецепторы нематод, рецепторы пахнущих веществ насекомых и опсинов класса Z простейших/бактерий/грибов.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления описанные в настоящем документе связывающие сывороточный альбумин Fn3 гибриды могут включать любой из следующих активных полипептидов: BOTOX, миоблок, нейроблок, диспорт (или другие серотипы ботулинических нейротоксинов), аглюкозидазу-альфа, даптомицин, УН-16, хорионический гонадотропин-альфа, филграстим, цетрореликс, интерлейкин-2, альдеслейкин, тецелейкин, денилейкин-дифтиток, интерферон-альфа-n3 (инъекционный), интерферон-альфа-n1, DL-8234, интерферон, Suntoxy (гамма-Ia), интерферон-гамма, тимозин-альфа 1, тасонермин, DigiFab, ViperaTAb, EchiTAb, CroFab, несиритид, абатацепт, алефацепт, Ребиф, эптотерминальфа, терипаратид (при остеопорозе), кальцитонин инъекционный (при заболевании костей), кальцитонин (назальный, при остеопорозе), этанерцепт, гемоглобин глутамер 250 (бычий), дротрекогин альфа, коллагеназу, карперитид, рекомбинантный эпидермальный фактор роста человека (местный гель, для заживления ран), DWP-401, дарбэпоэтин альфа, эпоэтин омега, эпоэтин бета, эпоэтин альфа, дезирудин, лепирудин, бивалирудин, нонаког альфа, мононин, эптакког альфа (активированный),

рекомбинантный фактор VIII+VWF, рекомбинат, рекомбинантный фактор VIII, фактор VIII (рекомбинантный), альфанат, октоког альфа, фактор VIII, палифермин, индикиназу, тенектеплазу, альтеплазу, памитеплазу, ретеплазу, натеплазу, монтеплазу, фоллитропин альфа, rFSH, hpFSH, микафунгин, пэгфилграстим, ленограстим, нартограстим, сермолин, глюкагон, эксенатид, прамлинтид, имиглуцеразу, галсульфазу, лейкотропин, молграмостим, трипторелина ацетат, гистрелин (подкожный имплант, гидрон), деслорелин, гистрелин, нафарелин, депо лейпролида с замедленным высвобождением (ATRIGEL), имплант с лейпролидом (DUROS), гозерелин, соматотропин, эутропин, KP-102 program, соматропин, соматропин, мекасермин (при нарушении роста), энфувиртид, Org-33408, инсулин гларгин, инсулин глулизин, инсулин (ингалируемый), инсулин лиспро, инсулин детемир, инсулин (трансбуккальный, RapidMist), мекасермин ринфабат, анакинра, целмолейкин, ⁹⁹mTc-апцитид инъекционный, миелопид, бетасерон, глатирамера ацетат, гепон, сарграмостим, опрелвекин, человеческие лейкоцитарные альфа-интерфероны, билив, инсулин (рекомбинантный), рекомбинантный человеческий инсулин, инсулин аспарт, мекасермин, роферон-А, интерферон-альфа 2, альфаферон, интерферон альфакон-1, интерферон-альфа, Авонекс - рекомбинантный лютеинизирующий гормон человека, дорназу альфа, трафермин, зиконотид, талтирелин, диботерминальфа, атосибан, бекаплермин, эптифибатид, земайру, СТС-111, шанвак-В, вакцину против HPV (тетравалентную), NOV-002, октреотид, ланреотид, анцестим, агалсидазу бета, агалсидазу альфа, ларонидазу, презатид ацетат меди (гель для местного применения), расбуриказу, ранибизумаб, актиммун, пегинтрон, трикомин, рекомбинантный инъекционный гипосенсибилизирующий фактор против аллергена клеща домашней пыли, рекомбинантный человеческий паратиреоидный гормон (PTH) 1-84 (подкожный, при остеопорозе), эпоэтин дельта, трансгенный антитромбин III, грандитропин, витразу, рекомбинантный инсулин, интерферон-альфа (пероральную пастилку), GEM-2 IS, вапреотид, идурсульфазу, омапатрилат, рекомбинантный сывороточный альбумин, цертолизумаб пегол, глюкокарпидазу, человеческий рекомбинантный ингибитор эстеразы C1 (при болезни Квинке), ланотеплазу, рекомбинантный человеческий гормон роста, энфувиртид (для безыгольной инъекции, Biojector 2000), VGV-I, интерферон (альфа), люцинактант, авиптадил (ингалируемый, при заболевании легких), икатибант, экаллантид, омиганан, Aurograb, пексиганана ацетат, ADI-PEG-20, LDI-200, дегареликс, цинтредекина бесудотокс, FavId, MDX-1379, ISAtx-247,

лираглутид, терипаратид (при остеопорозе), тифакогин, АА-4500, липосомный лосьон Т4N5, катумаксаб, DWP-413, ART-123, хризалин, десмотеплазу, амедиплазу, корифоллитропин альфа, ТН-9507, тедуглутид, диамид, DWP-412, гормон роста (инъекция с замедленным высвобождением), рекомбинантный G-CSF, инсулин (ингалируемый, AIR), инсулин (ингалируемый, Technosphere), инсулин (ингалируемый, AERx), RGN-303, DiaPep277, интерферон бета (при инфекции вирусом гепатита С (HCV)), интерферон-альфа-п3 (пероральный), белатацепт, трансдермальный пластырь с инсулином, AMG-531, MBP-8298, ксерцепт, опебакан, AIDSVAX, GV-1001, LymphoScan, ранпирназу, липоксиан, лусупултид, MP52 (бета-трикальцийфосфатный носитель, для регенерации кости), вакцина против меланомы, сипулейцел-Т, СТР-37, инседжиа, витеспен, человеческий тромбин (замороженный, при кровотечении в ходе оперативного вмешательства), тромбин, TransMID, алфимепразу, пуриказу, терлипрессин (внутривенный, при гепаторенальном синдроме), EUR-1008M, рекомбинантный FGF-I (инъекционный, при заболевании сосудов), BDM-E, ротигапид, ETC-216, P-113, MBI-594AN, дурамицин (ингалируемый, при муковисцидозе), SCV-07, OPI-45, эндостатин, ангиостатин, АВТ-510, концентрат ингибитора Боумена-Бирка, ХМР-629, аннексин V 99 mTc-Hynic, кахалалид F, СТСЕ-9908, теверликс (с продленным высвобождением), озареликс, ромидепсин, ВАУ-50-4798, интерлейкин-4, PRX-321, пепскан, ибоктадекин, gh-лактоферрин, TRU-015, IL-21, АТН-161, цилингитид, альбуферон, Biphasix, IRX-2, омега-интерферон, РСК-3145, САР-232, пасиреотид, huN901-DM1, иммунотерапевтическую вакцину против карциномы яичника, SB-249553, Oncovax-CL, OncoVax-P, BLP-25, CerVax-16, вакцину на основе мультиэпитопного пептида против меланомы (MART-I, gp100, тирозиназа), немифитид, rAAT (ингалируемый), rAAT (при дерматологических заболеваниях), CGRP (ингалируемый, при астме), пегсунерцепт, тимозин бета-4, плитидепсин, GTP-200, рамопланин, GRASPA, OBI-I, AC-100, кальцитонин лососевых рыб (пероральный, eligen), кальцитонин (пероральный, при остеопорозе), эксаморелин, капроморелин, Cardeva, велафермин, 131I-TM-601, КК-220, TP-10, уларитид, депелестат, гематид, хризалин (для местного применения), rNAPc2, рекомбинантный фактор VIII (пэгилированный липосомальный), bFGF, пэгилированный рекомбинантный вариант стафилокиназы, V-10153, SonoLysis Prolyse, NeuroVax, CZEN-002, терапевтическое средство для неогенеза островковых клеток, rGLP-1, BIM-51077, LY-548806, эксенатид (с контролируемым высвобождением, Medisorb),

AVE-0010, GA-GCB, аверолин, AOD-9604, линаклотида ацетат, CETi-I, гемоспан, VAL (инъекционный), быстродействующий инсулин (инъекционный, Viadel), интраназальный инсулин, инсулин (ингалируемый), инсулин (пероральный, eligen), рекомбинантный метионил-лептин человека, питракинру (подкожная инъекция, при экземе), питракинру (ингалируемый сухой порошок, при астме), Multikine, RG-1068, MM-093, NBI-6024, AT-001, PI-0824, Org-39141, CpnlO (при аутоиммунных заболеваниях/воспалении), талактоферрин (для местного применения), rEV-131 (для офтальмологического применения), rEV-131 (при респираторном заболевании), пероральный рекомбинантный человеческий инсулин (при сахарном диабете), RPI-78M, опрелвекин (пероральный), CYT-99007 CTLA4-Ig, DTY-001, валатеграст, интерферон-альфа-п3 (для местного применения), IRX-3, RDP-58, тауферон, стимулируемую солями желчных кислот липазу, мериспазу, щелочную фосфатазу, EP-2104R, меланотан-II, бремеланотид, ATL-104, рекомбинантный человеческий микроплазмин, AX-200, SEMAX, ACV-I, Xen-2174, CJC-1008, динорфин A, SI-6603, LAB GHRH, AER-002, BGC-728, вакцину против малярии (виросомы, PeviPRO), ALTU-135, вакцину против парвовируса В 19, вакцину против гриппа (рекомбинантную нейраминидазу), вакцину против малярии/НВV, вакцину против сибирской язвы, Vacc-5q, Vacc-4x, вакцину против ВИЧ (пероральную), вакцину против HPV, столбнячный токсид, YSPSL, CHS-13340, PTH(1-34) липосомальный крем (Novasome), остаболин-С, аналог PTH (для местного применения, при псориазе), MBRI-93.02, вакцину на основе МТВ72F (против туберкулеза), вакцину на основе MVA-Ag85 A (при туберкулезе), FAR-404, BA-210, вакцину на основе рекомбинантного F1V чумы, AG-702, OхSODro1, rBetV1, Der-p1/Der-p2/Der-p7 целенаправленную против аллергена вакцину (при аллергии, вызванной клещом домашней пыли), пептидный антиген PR1 (при лейкозе), вакцину на основе мутантного gas, вакцину на основе липопептида HPV-16 E7, вакцину против лабиринтина (при аденокарциноме), вакцину против CML, вакцину на основе WT1-пептида (при злокачественной опухоли), IDD-5, CDX-110, Pentrys, норелин, CytoFab, P-9808, VT-111, икрокапид, телбермин (для дерматологического применения, при язве диабетической стопы), рупинтвивир, ретикулозу, rGRF, P1A, альфа-галактозидазу A, ACE-011, ALTU-140, CGX-1160, ангиотензиновую терапевтическую вакцину, D-4F, ETC-642, APP-018, rhMBL, SCV-07 (пероральный, при туберкулезе), DRF-7295, ABT-828, ErbB2-специфический иммунотоксин (против злокачественной опухоли), DT388IL-3, TST-10088, PRO-1762,

комботокс, пептиды, связывающиеся с рецептором холецистокинина-В/гастрина, 1 1 1hEGF, AE-37, трастузумаб-DM1, антагонист G, IL-12 (рекомбинантный), PM-02734, IMP-321, rhIGF-1BP3, BLX-883, CUV-1647 (для местного применения), радиоиммунотерапевтические средства на основе L-19 (при злокачественной опухоли), Re-188-P-2045, AMG-386, DC/1540/KLH-вакцину (при злокачественной опухоли), VX-001, AVE-9633, AC-9301, NY-ESO-I-вакцину (пептиды), NA17.A2-пептиды, вакцину против меланомы (терапевтическое средство для сенсбилизации антигеном), вакцину против злокачественной опухоли предстательной железы, CBP-501, рекомбинантный человеческий лактоферрин (при синдроме сухого глаза), FX-06, AP-214, WAP-8294A2 (инъекционный), ACP-HP, SUN-11031, пептид YY [3-36] (при ожирении, интраназальный), FGLL, атацицепт, BR3-Fc, BN-003, BA-058, человеческий паратиреоидный гормон 1-34 (назальный, при остеопорозе), F-18-CCR1, AT-1001 (при глютеиновой болезни/сахарном диабете), JPD-003, PTH(7-34) липосомальный крем (Novasome), дурамицин (для офтальмологического применения, при синдроме сухого глаза), CAB-2, CTCE-0214, гликопэгилированный эритропоэтин, EPO-Fc, CNTO-528, AMG-114, JR-013, фактор XIII, аминокандин, PN-951, 716155, SUN-E7001, TH-0318, BAY-73-7977, тевереликс (с немедленным высвобождением), EP-51216, hGH (с контролируемым высвобождением, Biosphere), OGP-I, сифувиртид, TV-4710, ALG-889, Org-41259, rhCCIO, F-991, тимопентин (при заболевании легких), r(m)CRP, избирательный для печени инсулин, субалин, L 19-IL-2 гибридный белок, элафин, NMK-150, ALTU-139, EN-122004, rhTPO, агонист тромбопоэтинового рецептора (при тромбоцитопенических нарушениях), AL-108, AL-208, антагонисты фактора роста нервов (при боли), SLV-317, CGX-1007, INNO-105, пероральный терипаратид (eligen), GEM-OS1, AC-162352, PRX-302, вакцину на основе гибридного белка LFn-p24 (Therapore), EP-1043, вакцину для детей против *S. pneumoniae*, вакцину против малярии, вакцину против *Neisseria meningitidis* группы B, вакцину для новорожденных против стрептококков группы B, вакцину против сибирской язвы, вакцину против HCV (gpE1+gpE2+MF-59), средство терапии против отита среднего уха, вакцину против HCV (коровый антиген+ISCOMATRIX), hPTH(1-34) (для трансдермального применения, ViaDerm), 768974, SYN-101, PGN-0052, авискумин, BIM-23190, вакцину против туберкулеза, мультиэпитопный тирозиназный пептид, вакцину против злокачественной опухоли, энкастим, APC-8024, G1-5005, ACC-001,

TTS-CD3, ориентированный на сосуды TNF (солидные опухоли), десмопрессин (для трансбуккального введения с контролируемым высвобождением), онерцепт, TP-9201.

Дополнительные модификации

В соответствии с конкретными вариантами осуществления связывающие сывороточный альбумин молекулы и гибриды с ними могут дополнительно включать посттрансляционные модификации. Иллюстративные посттрансляционные модификации белка включают фосфорилирование, ацетилирование, метилирование, АДФ-рибозилирование, убиквитинирование, гликозилирование, карбонилирование, сумоилирование, биотинилирование или присоединение полипептидной боковой цепи или гидрофобной группы. В результате, модифицированные связывающие сывороточный альбумин молекулы и гибриды с ними могут содержать неаминокислотные элементы, такие как липиды, поли- или моносахариды и фосфаты. Предпочтительной формой гликозилирования является сиалирование, при котором с полипептидом происходит конъюгирование одной или нескольких фрагментов сиаловой кислоты. Фрагменты сиаловой кислоты улучшают растворимость и период полужизни в сыворотке, при этом также уменьшая возможную иммуногенность белка. См., например, работу Raju et al. *Biochemistry*. 2001 Jul. 31; 40(30):8868-76. Эффекты от таких неаминокислотных элементов на функциональные свойства связывающих сывороточный альбумин молекул или гибридов с ними можно протестировать по их способности связывать конкретный сывороточный альбумин (например, HSA или RhSA) и/или по функциональной роли, придаваемой конкретным отличным от ¹⁰Fn3 фрагментом, в контексте гибрида.

Г. Методика гибридизации нуклеиновой кислоты и белка

В соответствии с одним аспектом в настоящей заявке предложены фибронектиновые каркасные белки, содержащие домен фибронектина III типа, который связывается с HSA. Одним способом быстрого получения и тестирования Fn3 доменов со свойствами специфического связывания является методика гибридизации нуклеиновой кислоты и белка от Adnexus, Bristol-Myers Squibb Company. Такую методику *in vitro* экспрессии и мечения, называемую PROfusion, которая предусматривает использование гибридов нуклеиновой кислоты и белка (гибридов РНК и ДНК с белком), можно применять для выявления новых

полипептидов и аминокислотных мотивов, которые важны для связывания с белками. Методика гибридизации нуклеиновой кислоты и белка представляет собой методику, при помощи которой ковалентно связывают белок с кодирующим его носителем генетической информации. Для подробного описания методики гибридизации РНК и белка и способов скрининга библиотек фибронектиновых каркасных белков см. Szostak et al., патенты США №: 6258558, 6261804, 6214553, 6281344, 6207446, 6518018; публикации PCT № WO00/34784, WO01/64942, WO02/032925; и работу Roberts and Szostak, Proc Natl. Acad. Sci. 94: 12297-12302, 1997, которые включены в настоящий документ при помощи ссылки.

G. Варианты осуществления векторов и полинуклеотидов

Также в настоящее раскрытие включены последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующие любой из описанных в настоящем документе белков. Специалисты в настоящей области поймут, что в связи с вырожденностью кодона по третьему основанию почти каждая аминокислота в кодирующей нуклеотидной последовательности может быть представлена несколькими триплетами. Кроме того, изменения в парах минорных оснований могут привести к консервативной замене в кодируемой аминокислотной последовательности, но без предполагаемого практического изменения биологической активности генного продукта. Следовательно, последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую описанный в настоящем документе белок, может быть немного модифицирована в последовательности и все еще кодировать свой соответствующий генный продукт. Некоторые иллюстративные нуклеиновые кислоты, кодирующие описанные в настоящем документе связывающие сывороточный альбумин молекулы и гибриды с ними, включают нуклеиновые кислоты с последовательностями, изложенными под SEQ ID NO: 126-151. Также настоящим изобретением охватываются последовательности нуклеиновой кислоты, которые по меньшей мере на 50%, например, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, или по меньшей мере на 99% идентичны SEQ ID NO: 126-151, и предпочтительно кодируют белок, который связывается с сывороточным альбумином, а для нуклеиновых кислот, кодирующих тандемный аднектин PCSK9-PKE2,

предпочтительно чтобы они связывались с сывороточным альбумином и PCSK9. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления нуклеотидные замены вводят так, чтобы не изменять получаемую в результате транслируемую аминокислотную последовательность.

Нуклеиновые кислоты, кодирующие любой из различных раскрываемых в настоящем документе белков или полипептидов, можно синтезировать химическими способами. Частоту использования кодона можно подобрать так, чтобы повысить экспрессию в клетке. Такая частота использования кодона будет зависеть от выбранного типа клетки. Специализированные паттерны частоты использования кодона были разработаны для *E. coli* и других бактерий, а также для клеток млекопитающих, клеток растений, дрожжевых клеток и клеток насекомых. См., например: Mayfield et al., *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003 100(2):438-42; Sinclair et al. *Protein Expr Purif*. 2002 (1):96-105; Connell ND. *Curr Opin Biotechnol*. 2001 (5):446-9; Makrides et al. *Microbiol. Rev*. 1996 60(3):512-38; и Sharp et al. *Yeast*. 1991 7(7):657-78.

Общие методики для манипуляции с нуклеиновыми кислотами известны специалисту в настоящей области, а также описаны, например, в работе Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2 ed., 1989, или F. Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (Green Publishing and Wiley-Interscience: New York, 1987) и периодических дополнениях, которые включены в настоящий документ при помощи ссылки. ДНК, кодирующая белок, функционально связана с подходящими транскрипционными или трансляционными элементами, происходящими от генов млекопитающих, вирусов или насекомых. Такие регуляторные элементы включают транскрипционный промотор, необязательную операторную последовательность для контроля транскрипции, последовательность, кодирующую подходящие сайты связывания с рибосомой на мРНК, и последовательности, которые контролируют окончание транскрипции и трансляции. Дополнительно включают способность реплицироваться у хозяина, обычно придаваемую точкой начала репликации, и ген для отбора, облегчающий распознавание трансформантов. Подходящие регуляторные элементы хорошо известны из уровня техники.

Описанные в настоящем документе белки и гибридные белки можно получить в виде гибридного белка с гетерологичным полипептидом, который предпочтительно представляет

собой сигнальную последовательность или другой полипептид со специфическим сайтом расщепления на N-конце зрелого белка или полипептида. Выбранная гетерологичная сигнальная последовательность предпочтительно является такой, чтобы она распознавалась и процессировалась (т. е. отщеплялась сигнальной пептидазой) клеткой-хозяином. Для прокариотических клеток-хозяев, которые не распознают и не процессируют нативную сигнальную последовательность, сигнальную последовательность замещают прокариотической сигнальной последовательностью, выбранной, например, из группы, состоящей из лидерных последовательностей щелочной фосфатазы, пенициллиназы, 1 пр или термостабильного энтеротоксина II. Для секреции у дрожжей нативную сигнальную последовательность можно заместить, например, лидерной последовательностью дрожжевой инвертазы, лидерной последовательностью фактора (в том числе лидерными последовательностями альфа-факторов *Saccharomyces* и *Kluyveromyces*) или лидерной последовательностью кислой фосфатазы, лидерной последовательностью глюкоамилазы *S. albicans* или сигнальной последовательностью, описанной в публикации РСТ № WO 90/13646. При экспрессии в клетках млекопитающих пригодны сигнальные последовательности млекопитающих, а также вирусные секреторные лидерные последовательности, например, сигнальная последовательность gD простого герпеса. ДНК для таких участков-предшественников можно лигировать в рамке считывания с ДНК, кодирующей белок.

Векторы экспрессии, применяемые в эукариотических клетках-хозяевах (например, дрожжевых, грибных, насекомых, растений, животных, человека или ядродержащих клетках других многоклеточных организмов), также будут содержать последовательности, необходимые для окончания транскрипции и для стабилизации мРНК. Такие последовательности обычно доступны на 5' и, изредка 3', нетранслируемых участках эукариотических или вирусных ДНК или кДНК. Эти участки содержат нуклеотидные сегменты, транскрибируемые в виде полиаденилированных фрагментов в нетранслируемой части мРНК, кодирующей мультивалентное антитело. Одним пригодным компонентом для окончания транскрипции является участок полиаденилирования бычьего гормона роста. См. публикацию РСТ № WO 94/11026 и раскрытый в ней вектор экспрессии.

Рекомбинантная ДНК также может включать последовательность белковой метки любого типа, которая может быть полезна для очистки белка. Примеры белковых меток

включают без ограничения гистидиновую метку, метку FLAG, метку тус, метку HA или метку GST. Подходящие для применения с бактериальными, грибными, дрожжевыми клетками-хозяевами и клетками-хозяевами млекопитающих векторы клонирования и экспрессии можно найти в работе Cloning Vectors: A Laboratory Manual, (Elsevier, New York, 1985), соответствующее раскрытие которой, таким образом, включено с помощью ссылки.

Конструкцию экспрессии вводят в клетку-хозяина при помощи способа, подходящего для клетки-хозяина, что будет очевидно специалисту в настоящей области. Из уровня техники известен ряд способов введения нуклеиновых кислот в клетки-хозяева, в том числе без ограничения электропорация; трансфекция с использованием хлорида кальция, хлорида рубидия, фосфата кальция, DEAE-декстрана или других веществ; бомбардировка микрочастицами; липофекция и инфекция (в которой вектором является инфекционный агент).

Подходящие клетки-хозяева включают прокариоты, дрожжевые клетки, клетки млекопитающих или бактериальные клетки. Подходящие бактерии включают грамположительные организмы, например, *E. coli* или *Bacillus spp.* Для получения полипептидов также можно использовать дрожжи, предпочтительно из видов рода *Saccharomyces*, таких как *S. cerevisiae*. Для экспрессии рекомбинантных белков также можно использовать различные системы культуры клеток млекопитающих или насекомых. Бакуловирусные системы для получения гетерологичных белков в клетках насекомых рассмотрены в работе Luckow и Summers, (*Bio/Technology*, 6:47, 1988). В некоторых случаях будет необходимо получение белков в клетках позвоночных, например для гликозилирования, а размножение клеток позвоночных в культуре (тканевой) уже стало стандартной процедурой. Примеры подходящих линий клеток-хозяев млекопитающих включают эндотелиальные клетки, клетки почек обезьян COS-7, CV-1, L-клетки, C127, 3T3, клетки яичника китайского хомячка (CHO), человеческие эмбриональные клетки почек, линии клеток HeLa, 293, 293T и ВНК. Для многих применений малый размер белковых мультимеров, описанных в настоящем документе, делает *E. coli* предпочтительным способом экспрессии.

Н. Получение белка

Клетки-хозяева трансформируют описанными в настоящем документе векторами экспрессии или клонирования для получения белка и культивируют в традиционных питательных средах, надлежащим образом модифицированных для индукции промоторов, отбора трансформантов или амплификации генов, кодирующих необходимые последовательности.

Клетки-хозяева, применяемые для получения фибронектиновых каркасных белков или гибридов с ними, можно культивировать в различных средах. Для культивирования клеток-хозяев подходят коммерчески доступные среды, такие как Ham's F10 (Sigma), минимальная питательная среда ((MEM), (Sigma)), RPMI-1640 (Sigma) и среда Игла, модифицированная по способу Дульбекко ((DMEM), (Sigma)). Кроме того, любую из описанных в работе Ham et al., Meth. Enz. 58:44 (1979), Barnes et al., Anal. Biochem. 102:255 (1980), патентах США №№ 4767704, 4657866, 4927762, 4560655 или 5122469; WO90/03430; WO87/00195 или патенте США № Re. 30985 сред можно применять в качестве культуральной среды для клеток-хозяев. Любую из таких сред можно при необходимости дополнить гормонами и/или другими факторами роста (такими как инсулин, трансферрин или эпидермальный фактор роста), солями (такими как хлорид натрия, кальций, магний и фосфат), буферами (такими как HEPES), нуклеотидами (такими как аденозин и тимидин), антибиотиками (такими как лекарственное средство GENTAMYCIN™), микроэлементами (определяемыми как неорганические соединения, обычно присутствующие в конечных концентрациях в микромольном диапазоне) и глюкозой или эквивалентным источником энергии. Также можно включить любые другие необходимые добавки в соответствующих концентрациях, которые будут известны специалистам в настоящей области. Условия культивирования, такие как температура, pH и т. п., являются такими, которые в прошлом уже были использованы с клетками-хозяевами, выбранными для экспрессии, и будут известны рядовому специалисту в настоящей области.

Раскрываемые в настоящем документе фибронектиновые каркасные белки или гибриды с ними также можно получить с помощью бесклеточных систем трансляции. Для этих целей нуклеиновые кислоты, кодирующие фибронектиновый каркасный белок, должны быть модифицированы так, чтобы сделать возможной *in vitro* транскрипцию для получения мРНК и для обеспечения бесклеточной трансляции мРНК в конкретной

используемой бесклеточной системе (эукариотической, такой как бесклеточная система трансляции млекопитающих или дрожжей, или прокариотической, такой как бактериальная бесклеточная система трансляции).

Фибронектиновые каркасные белки или гибриды с ними также можно получить с помощью химического синтеза (например, с помощью способов, описанных в работе *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2nd ed., 1984, The Pierce Chemical Co., Rockford, IL). Модификации в фибронектиновом каркасном белке также можно получить с помощью химического синтеза.

Раскрываемые в настоящем документе фибронектиновые каркасные белки или гибриды с ними можно очистить с помощью способов выделения/очистки для белков, которые в целом известны в области химии белков. Неограничивающие примеры включают экстракцию, рекристаллизацию, высаливание (например, при помощи сульфата аммония или сульфата натрия), центрифугирование, диализ, ультрафильтрацию, адсорбционную хроматографию, ионообменную хроматографию, гидрофобную хроматографию, нормально-фазовую хроматографию, обращенно-фазовую хроматографию, гель-фильтрацию, эксклюзионную хроматографию, аффинную хроматографию, электрофорез, противоточное распределение или любую комбинацию из них. После очистки фибронектиновые каркасные белки можно подвергнуть обмену в различных буферах и/или сконцентрировать при помощи любого из ряда известных в настоящей области техники способов, в том числе без ограничения фильтрации и диализа.

Очищенный фибронектиновый каркасный белок или гибриды с ним предпочтительно является по меньшей мере на 85% чистым, более предпочтительно по меньшей мере на 95% чистым и наиболее предпочтительно по меньшей мере на 98% чистым. Независимо от конкретного числового значения степени чистоты фибронектиновый каркасный белок является достаточно чистым для применения в качестве фармацевтического продукта.

I. Визуализационные, диагностические и другие области применения

Предлагаемые в настоящем документе связывающие сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ гибриды можно применять для лечения ряда заболеваний и нарушений, исходя из особенности гетерогенной молекулы, гибридизированной со связывающимся с сывороточным альбумином $^{10}\text{Fn3}$ доменом. Области применения для связывающих

сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ гибридов специалист в настоящей области сможет определить, исходя из сведений, известных из уровня техники, и приведенной в настоящем документе информации. В настоящем документе подробно описаны применения для различных связывающих сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ гибридных белков. Связывающие сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ гибриды можно вводить любому субъекту-млекопитающему или пациенту-млекопитающему, в том числе в организм человека или другие организмы.

Связывающие сывороточный альбумин молекулы и гибридные молекулы, описанные в настоящем документе, можно пометить детектируемой меткой и применять для вхождения в контакт с клетками, экспрессирующими, например, белок, связанный гибридной молекулой для визуализационных или диагностических областей применения. Можно использовать любой известный в настоящей области техники способ конъюгирования белка с детектируемым фрагментом, включая такие способы, которые описаны в работе Hunter, et al., *Nature* 144:945 (1962); David, et al., *Biochemistry* 13:1014 (1974); Pain, et al., *J. Immunol. Meth.* 40:219 (1981); и в работе Nygren, J. *Histochem. and Cytochem.* 30:407 (1982).

В соответствии с конкретными вариантами осуществления описанные в настоящем документе связывающие сывороточный альбумин молекулы и гибридные молекулы дополнительно присоединяют к метке, которую можно детектировать (например, меткой может быть радиоактивный изотоп, флуоресцентное соединение, фермент или ферментный кофактор). Меткой может быть радиоактивное средство, такое как: радиоактивные тяжелые металлы, такие как хелаты железа, радиоактивные хелаты гадолиния или марганца, излучатели позитронов кислорода, азота, железа, углерода или галлия, ^{43}K , ^{52}Fe , ^{57}Co , ^{67}Cu , ^{67}Ga , ^{68}Ga , ^{123}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{132}I или ^{99}Tc . В соответствии с конкретными вариантами осуществления метка может представлять собой флуоресцентное или хемилюминесцентное соединение, такое как флуоресцинизоцианат, родамин или люциферин; или фермент, такой как щелочная фосфатаза, бета-галактозидаза или пероксидаза хрена. Связывающую сывороточный альбумин молекулу или гибридную молекулу, прикрепленную к такому фрагменту, можно применять в качестве визуализирующего средства и вводить в количестве, эффективном для диагностического применения на млекопитающих, таких как человек, а затем детектирования локализации и накопления визуализирующего средства. Локализацию и накопление визуализирующего средства можно детектировать с помощью

радиосцинтиграфии, визуализации ядерного магнитного резонанса, компьютерной томографии или позитронно-эмиссионной томографии. Специалисту в настоящей области техники будет очевидно, что количество подлежащего введению радиоизотопа зависит от конкретного радиоизотопа. Рядовые специалисты в настоящей области смогут легко определить количество подлежащего введению визуализирующего средства, исходя из удельной радиоактивности и энергии заданного радионуклида, используемого в качестве активного фрагмента.

Связывающие сывороточный альбумин молекулы и гибридные молекулы также пригодны в качестве средств для аффинной очистки. В соответствии с таким способом белки иммобилизируют на подходящей подложке, такой как смола или фильтровальная бумага Сефадекс, с помощью способов, которые хорошо известны из уровня техники. Такие белки можно использовать в любом известном аналитическом способе, таком как анализы конкурентного связывания, прямой и непрямой сэндвич-анализы и иммунопреципитационные анализы (Zola, *Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques*, pp. 147-158 (CRC Press, Inc., 1987)).

Ж. Биофизическая и биохимическая характеристика

Связывание связывающего сывороточный альбумин аднектина, описанного в настоящем документе, с сывороточным альбумином (например, HSA) можно оценить при помощи констант равновесия (например, диссоциации, K_D) и при помощи констант скорости реакции (например, константы скорости ассоциации, k_{on} , и константы скорости диссоциации, k_{off}). Связывающий сывороточный альбумин аднектин (например, PKE2-моно- или тандемный аднектин) обычно будет связываться с целевой молекулой с K_D менее 500 нМ, 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ, 500 пМ, 200 пМ или 100 пМ, хотя могут допускаться более высокие значения K_D , если k_{off} является достаточно низкой или k_{on} является достаточно высокой.

In vitro анализы аффинности связывания

PKE2-аднектин, который связывается с сывороточным альбумином (например, HSA), можно выявить с помощью различных *in vitro* анализов. В соответствии с конкретными

вариантами осуществления такие анализы являются высокопроизводительными анализами, которые осуществляют одновременный скрининг множества потенциальных аднектинов.

Иллюстративные анализы для определения аффинности связывания аднектина с его целью включают без ограничения жидкофазные способы, такие как анализ кинетического исключения (KinExA) (Blake et al., JBC 1996; 271:27677-85; Drake et al., Anal Biochem 2004; 328:35-43), анализы на основе поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с применением системы Biacore (Уппсала, Швеция) (Welford et al., Opt. Quant. Elect 1991; 23:1; Morton and Myszka, Methods in Enzymology 1998; 295:268) и гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF) (Newton et al., J Biomol Screen 2008; 13:674-82; Patel et al., Assay Drug Dev Technol 2008; 6:55-68).

В соответствии с конкретными вариантами осуществления биомолекулярные взаимодействия можно отслеживать в реальном времени с помощью системы Biacore, которая использует SPR для обнаружения изменений угла резонанса света на поверхности тонкой золотой пленки на стеклянной подложке вследствие изменений коэффициента преломления у поверхности на величину до 300 нм. Анализ Biacore (например, описанный в Примере 2) позволяет получить константы скорости ассоциации, константы скорости диссоциации, равновесные константы диссоциации и константы аффинности. Аффинность связывания получают путем оценки констант скорости ассоциации и диссоциации с помощью системы для оценки поверхностного плазмонного резонанса Biacore (Biacore, Inc.). Биосенсорный чип активируется при ковалентном связывании цели. Затем цели разводят и вводят на чип для получения сигнала в единицах ответа иммобилизованного материала. Поскольку сигнал в единицах ответа (RU) пропорционален массе иммобилизованного материала, он представляет диапазон значений плотности иммобилизованных целей на матрице. Данные по ассоциации и диссоциации совместно согласуют в общем анализе для решения соотношения чистой скорости для биомолекулярного соотношения 1:1 с получением значений наилучшего согласия для k_{on} , k_{off} и R_{max} (максимальный ответ при насыщении). Равновесные константы диссоциации для связывания K_D рассчитывают из результатов измерений SPR в виде k_{off}/k_{on} .

Следует понимать, что вышеописанные в настоящем документе анализы являются иллюстративными и что можно использовать любой известный из уровня техники способ определения аффинности связывания белков (например, анализ переноса энергии

флуоресценции (FRET), твердофазный иммуноферментный анализ и конкурентно-связывающие анализы (например, радиоиммунологические анализы)) для оценки значений аффинности связывания описываемых в настоящем документе РКЕ2-аднектинов.

В соответствии с конкретными вариантами осуществления температура плавления (T_m) у связывающего сывороточный альбумин аднектина, который описан в настоящем документе, у гибридных белков, которые его содержат, составляет по меньшей мере 50°C, например, по меньшей мере 51°C, по меньшей мере 52°C, по меньшей мере 53°C, по меньшей мере 54°C, по меньшей мере 55°C, по меньшей мере 56°C, по меньшей мере 57°C, по меньшей мере 58°C, по меньшей мере 59°C, по меньшей мере 60°C, по меньшей мере 61°C, по меньшей мере 62°C, по меньшей мере 63°C, по меньшей мере 64°C, по меньшей мере 65°C, по меньшей мере 66°C, по меньшей мере 67°C, по меньшей мере 68°C, по меньшей мере 69°C, по меньшей мере 70°C, по меньшей мере 71°C, по меньшей мере 72°C, по меньшей мере 73°C, по меньшей мере 74°C, или по меньшей мере 75°C, при измерении с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) или термической сканирующей флуоресцентной спектроскопии (TSF), например, как описано в разделе Примеры. В соответствии с конкретными вариантами осуществления температура плавления (T_m) у связывающего сывороточный альбумин аднектина, который описан в настоящем документе, или у гибридных белков, которые его содержат, составляет 50-75°C, например, 51-75°C, 52-75°C, 53-75°C, 54-75°C, 55-75°C, 56-75°C, 57-75°C, 58-75°C, 59-75°C, 60-75°C, 61-75°C, 62-75°C, 63-75°C, 64-75°C, 65-75°C, 66-75°C, 67-75°C, 68-75°C, 69-75°C, 70-75°C, 50-74°C, 50-73°C, 50-72°C, 50-71°C, 50-70°C, 50-69°C, 50-68°C, 50-67°C, 50-66°C, 50-65°C, 50-64°C, 50-63°C, 50-62°C, 50-61°C, 50-60°C, 50-59°C, 50-58°C, 50-57°C, 50-56°C, 50-55°C, 51-74°C, 52-73°C, 53-71°C, 54-70°C или 55-65°C, при измерении с помощью дифференциальной калориметрии (DSC) или термической сканирующей флуоресцентной спектроскопии (TSF), например, как описано в разделе Примеры.

К. Терапевтические применения *in vivo*

Настоящее изобретение относится к фибронектиновым каркасным белкам, которые пригодны при лечении нарушений. В случае гибридных белков, содержащих связывающий сывороточный альбумин аднектин, поддающиеся лечению заболевания или нарушения будут определяться специфичностью связывания фрагмента, например, второго аднектина,

который соединен с аднектином. Как описано в настоящем документе, фибронектиновые каркасные белки могут быть предназначены для связывания любой представляющей интерес цели. В соответствии с одним вариантом осуществления целью является PCSK9. Фибронектиновые каркасные белки, которые связываются с PCSK9, и гибридные белки, которые их содержат, можно применять для лечения атеросклероза, гиперхолестеринемии и других связанных с повышенный уровнем холестерина заболеваний.

В настоящей заявке также представлены способы введения субъекту фибронектиновых каркасных белков. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления субъектом является человек. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления фибронектиновые каркасные белки являются фармацевтически приемлемыми для млекопитающего, в частности человека. «Фармацевтически приемлемая» композиция относится к композиции, которую вводят животному без существенных побочных медицинских последствий. Примеры фармацевтически приемлемых композиций включают композиции, содержащие $^{10}\text{Fn3}$ домены, у которых отсутствует интегрин-связывающий домен (RGD), и композиции, которые фактически не содержат эндотоксин или пироген или содержат очень низкие уровни эндотоксина или пирогена.

L. Составы и введение

В настоящей заявке предложены способы введения терапевтического фрагмента, гибридного со связывающим сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ доменом, причем период полужизни терапевтического фрагмента продлен при гибридизации со связывающим сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ доменом. Методики и дозировки для введения гибридных конструкций будут варьировать в зависимости от типа терапевтического фрагмента, гибридного со связывающим сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ доменом, и конкретного подвергаемого лечению состояния, но специалист в настоящей области без труда определит их. В целом, контролирующие органы требуют, чтобы белковый реагент, подлежащий применению в качестве терапевтического средства, был смешан в состав так, чтобы он содержал приемлемо низкие уровни пирогенов. Соответственно, терапевтические составы обычно будут отличаться от других составов в том, что они практически не будут содержать пироген или по меньшей мере будут содержать не превышающие приемлемые уровни пирогена, которые определены соответствующим контролирующим органом

(например, FDA). В соответствии с конкретными вариантами осуществления фармацевтические составы со связывающими сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ доменами и гибридными с ними молекулами содержат, например, 1-20 мМ янтарной кислоты, 2-10% сорбита и 1-10% глицина с рН 4,0-7,0. В соответствии с иллюстративным вариантом осуществления фармацевтические составы со связывающими сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ доменами и гибридными с ними молекулами содержат, например, 10 мМ янтарной кислоты, 8% сорбита и 5% глицина с рН 6,0.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления связывающие сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ домены и гибриды с ними являются фармацевтически приемлемыми для млекопитающего, в частности для человека. «Фармацевтически приемлемый» полипептид относится к полипептиду, который вводят животному без существенных побочных медицинских последствий. Примеры фармацевтически приемлемого связывающего сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ домена и гибридов с ним включают $^{10}\text{Fn3}$ домены, которые не содержат интегрин-связывающий домен (RGD), и композиции со связывающими сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ доменами или гибридами со связывающим сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ доменом, которые фактически не содержат эндотоксин или имеют очень низкие уровни эндотоксина.

Терапевтические композиции можно вводить с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем или формообразующим в стандартной лекарственной форме. Введение может быть, в качестве неограничивающих примеров, парентеральным (например, внутривенный, подкожный), пероральным или местным применением. Композиция может иметь форму пилюли, таблетки, капсулы, жидкости или таблетки с замедленным высвобождением для перорального введения; жидкости для внутривенного, подкожного или парентерального введения; или геля, лосьона, мази, крема или полимерного или другого типа наполнителя с замедленным высвобождением для местного применения.

Способы получения составов, которые хорошо известны настоящей области техники, можно найти, например, в работе «Remington: The Science and Practice of Pharmacy» (20th ed., ed. A. R. Gennaro A R., 2000, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.). Составы для парентерального введения могут содержать, например, формообразующие, стерильную воду, солевой раствор, полиалкиленгликоли, такие как полиэтиленгликоль, масла растительного происхождения или гидрогенизированные нафталины. Для контроля

высвобождения соединения можно применять биосовместимый, биоразлагаемый лактидный полимер, сополимер лактида/гликолида или сополимеры полиоксиэтилена и полиоксипропилена. Для контроля биораспределения соединения можно применять составы в форме наночастиц (например, биоразлагаемые наночастицы, твердые липидные наночастицы, липосомы). Другие потенциально пригодные системы парентеральной доставки включают частицы на основе сополимера этилена и винилацетата, осмотические насосы, имплантируемые инфузионные системы и липосомы. Концентрация соединения в составе варьирует в зависимости от ряда факторов, в том числе дозировки подлежащего введению лекарственного средства и пути введения.

Полипептид необязательно можно вводить в виде фармацевтически приемлемой соли, такой как нетоксичные соли присоединения кислоты, или комплексов с металлами, которые традиционно применяют в фармацевтической промышленности. Примеры солей присоединения кислоты включают органические кислоты, такие как уксусная, молочная, палмовая, малеиновая, лимонная, яблочная, аскорбиновая, янтарная, бензойная, пальмитиновая, пробковая, салициловая, виннокаменная, метансульфоновая, толуолсульфоновая или тифторуксусная кислоты или другие; полимерные кислоты, такие как дубильная кислота, карбоксиметилцеллюлоза или другие; и неорганическую кислоту, такую как соляная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, фосфорная кислота или другие. Комплексы с металлами включают цинк, железо и другие. В соответствии с одним примером полипептид смешан в составе в присутствии ацетата натрия для повышения термостабильности.

Составы для перорального применения включают таблетки, содержащие активный ингредиент(ы) в смеси с нетоксичными фармацевтически приемлемыми формообразующими. Такие формообразующие могут представлять собой, например, инертные разбавители или наполнители (например, сахарозу и сорбит), смазывающие вещества, вещества, способствующие скольжению, и противoadгезивные средства (например, стеарат магния, стеарат цинка, стеариновую кислоту, разновидности диоксида кремния, гидрогенизированные растительные масла или тальк).

Составы для перорального применения также могут быть представлены в виде жевательных таблеток или в виде твердых желатиновых капсул, в которых активных

ингредиент смешан с инертным твердым разбавителем, или в виде мягких желатиновых капсул, в которых активный ингредиент смешан с водой или масляной средой.

Терапевтически эффективная доза относится к дозе, которая производит терапевтические эффекты, с целью которых ее вводят. Точная доза будет зависеть от подлежащего лечению нарушения и может быть установлена специалистом в настоящей области с помощью известных методик. В целом, гибриды со связывающими сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ доменами или со связывающим сывороточный альбумин $^{10}\text{Fn3}$ доменом вводят в количестве от приблизительно 0,01 мкг/кг до приблизительно 50 мг/кг в день, предпочтительно от 0,01 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг в день, наиболее предпочтительно от 0,1 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг в день. Полипептид можно давать ежедневно (например, один, два, три раза или четыре раза в день) или реже (например, один раз в два дня, один или два раза в неделю, один раз в две недели или раз в месяц). Кроме того, как известно из уровня техники, могут быть необходимы корректировки на возраст, а также массу тела, общее состояние здоровья, пол, рацион, время введения, взаимодействие с другими лекарственными средствами и тяжесть заболевания, и специалисты в настоящей области смогут установить их с помощью простого эксперимента.

Содержание всех фигур и всех литературных источников, последовательностей из Genbank, патентов и опубликованных заявок на выдачу патентов, которые упомянуты в настоящей заявке, однозначно включено в настоящий документ при помощи ссылки. В частности, раскрытие предварительной заявки на выдачу патента США № 61/968181 (поданной 20 марта 2014 года) явно включено в настоящий документ при помощи ссылки.

В приведенном выше раскрытии в целом описано настоящее раскрытие, которое дополнительно проиллюстрировано приведенными далее примерами. Данные конкретные примеры описаны лишь с целью иллюстрации и не предназначены для ограничения объема настоящего раскрытия. Несмотря на то, что в настоящем документе были использованы конкретные нормы, термины и значения, такие нормы, термины и значения будут аналогично пониматься как иллюстративные и неограничивающие в отношении объема настоящего раскрытия.

Примеры

Высокопроизводительное получение белка (HTPP)

Выбранные связывающие молекулы, которые были клонированы в вектор PET9d перед HIS₆-меткой и трансформированы в клетки BL21 DE3 plysS E. coli, инокулировали в 5 мл среде LB, которая содержала 50 мкг/мл канамицина, в 24-луночном формате и выращивали при 37°C в течение ночи. Получали свежие 5 мл культуры в среде LB (50 мкг/мл канамицина) для индуцируемой экспрессии путем аспирации 200 мкл из полученной за ночь культуры и внесения их в соответствующую лунку. Культуры выращивали при 37°C до достижения A₆₀₀ 0,6-0,9. После индукции при помощи 1 mM изопротил-β-тиогалактозида (IPTG) культуре позволяли экспрессироваться в течение 6 часов при 30°C и собирали полученный продукт при помощи центрифугирования в течение 10 минут на 2750 g при 4°C.

Клеточные осадки (в 24-луночном формате) лизировали путем ресуспендирования в 450 мкл лизирующего буфера (50 mM NaH₂PO₄, 0,5 M NaCl, 1x коктейль ингибиторов протеаз без ЭДТА Complete™ (Roche), 1 mM PMSF, 10 mM CHAPS, 40 mM имидазола, 1 мг/мл лизоцима, 30 мкг/мл ДНКазы, 2 мкг/мл апротонина, pH 8,0) и встряхивали при комнатной температуре в течение 1-3 часов. Лизаты осветляли и повторно декантировали в 96-луночном формате путем переноса в 96-луночный Whatman GF/D Unifilter, оснащенный 96-луночным, 1,2 мл планшетом для улавливания, и фильтровали под положительным давлением. Осветленные лизаты переносили в 96-луночный планшет для хелатирования никеля или кобальта, который уравнивали при помощи равновесного буфера (50 mM NaH₂PO₄, 0,5 M NaCl, 40 mM имидазола, pH 8,0) и инкубировали в течение 5 минут. Несвязавшийся материал удаляли под положительным давлением. Смолу дважды промывали при помощи 0,3 мл/лунка промывочного буфера №1 (50 mM NaH₂PO₄, 0,5 M NaCl, 5 mM CHAPS, 40 mM имидазола, pH 8,0). Каждый смыв удаляли под положительным давлением. Перед элюированием каждую лунку промывали при помощи 50 мкл элюирующего буфера (PBS + 20 mM EDTA), инкубировали в течение 5 минут и удаляли такой смыв под положительным давлением. Белок элюировали путем внесения дополнительных 100 мкл элюирующего буфера в каждую лунку. Спустя 30 минут инкубации при комнатной температуре планшет(ы) центрифугировали в течение 5 минут на 200 g и элюированный белок собирали в 96-луночные планшеты для улавливания, которые

содержали 5 мкл 0,5 М $MgCl_2$, добавленного на дно планшета для улавливания элюата перед элюированием. Элюированный белок количественно оценивали с помощью анализа общего белка с $^{10}Fn3$ доменом дикого типа в качестве стандарта белка.

Среднемасштабная экспрессия и очистка нерастворимых молекул, связывающих фибронектиновый каркасный белок

Для экспрессии нерастворимых клонов клон(ы), после которых шла HIS_6 -метка, клонировали в вектор pET9d (EMD Bioscience, Сан-Диего, Калифорния) и экспрессировали в клетках HMS174 E. coli. Двадцать мл инокулируемой культуры (полученной от одной высеянной колонии) использовали для инокуляции 1 литра среды LB, которая содержала 50 мкг/мл карбенициллина и 34 мкг/мл хлорамфеникола. Культуру выращивали при 37°C до достижения A_{600} 0,6-1,0. После индукции при помощи 1 мМ изопропил- β -тиогалактозида (IPTG) культуру выращивали в течение 4 часов при 30°C и полученный продукт собирали при помощи центрифугирования в течение 30 минут на > 10000 g при 4°C. Клеточные осадки замораживали при -80°C. Клеточный осадок ресуспендировали в 25 мл лизирующего буфера (20 мМ NaH_2PO_4 , 0,5 М NaCl, 1x коктейль ингибиторов протеаз без ЭДТА Complete (Roche), 1 мМ PMSF, pH 7,4) с применением гомогенизатора ULTRA-TURRAX® (IKA works) на льду. Клеточный лизис осуществляли при помощи гомогенизации под высоким давлением (>18000 psi) с применением микрофлюидизатора MICROFLUIDIZER® модели M-1 10S (Microfluidics). Нерастворимую фракцию отделяли при помощи центрифугирования в течение 30 минут на 23300 g при 4°C. Нерастворимый осадок, полученный в результате центрифугирования лизата, промывали посредством 20 мМ фосфата натрия/500 мМ NaCl, pH 7,4. Осадок повторно растворяли в 6,0 М гуанидина гидрохлориде в 20 мМ фосфате натрия/500 М NaCl, pH 7,4 путем обработки ультразвуком с последующим инкубированием при 37 градусах в течение 1-2 часов. Повторно растворенный осадок фильтровали до 0,45 мкм и загружали на колонку со смолой для очистки по гистидиновой метке, уравновешенной при помощи буфера 20 мМ фосфата натрия/500 М NaCl/6,0 М гуанидина, pH 7,4. После загрузки колонку промывали дополнительными 25 объемами колонки того же буфера. Связавшийся белок элюировали при помощи 50 мМ имидазола в 20 мМ фосфате натрия/500 мМ NaCl/6,0 М гуанидин-HCl,

pH7,4. Очищенный белок подвергали рефолдингу путем диализа против 50 мМ ацетата натрия/150 мМ NaCl, pH 4,5.

Среднемасштабная экспрессия и очистка растворимых молекул, связывающих фибронектиновый каркасный белок

Для экспрессии растворимых клонов клон(ы), после которых шла HIS₆-метка, клонировали в вектор pET9d (EMD Bioscience, Сан-Диего, Калифорния) и экспрессировали в клетках HMS174 E. coli. Двадцать мл инокулируемой культуры (полученной от одной высеянной колонии) использовали для инокуляции 1 литра среды LB, которая содержала 50 мкг/мл карбенициллина и 34 мкг/мл хлорамфеникола. Культуру выращивали при 37°C до достижения A₆₀₀ 0,6-1,0. После индукции при помощи 1 мМ изопропил-β-тиогаляктозида (IPTG) культуру выращивали в течение 4 часов при 30°C и полученный продукт собирали при помощи центрифугирования в течение 30 минут на > 10000 g при 4°C. Клеточные осадки замораживали при -80°C. Клеточный осадок ресуспендировали в 25 мл лизирующего буфера (20 мМ NaH₂PO₄, 0,5 М NaCl, 1x коктейль ингибиторов протеаз без ЭДТА Complete (Roche), 1 мМ PMSF, pH 7,4) с применением гомогенизатора ULTRA-TURRAX® (IKA works) на льду. Клеточный лизис осуществляли при помощи гомогенизации под высоким давлением (>18000 psi) с применением микрофлюидизатора MICROFLUIDIZER® модели M-1 10S (Microfluidics). Растворимую фракцию отделяли при помощи центрифугирования в течение 30 минут на 23300 g при 4°C. Надосадочную жидкость осветляли при помощи 0,45 мкм фильтра. Осветленный лизат загружали на колонку со смолой для очистки по гистидиновой метке (GE), предварительно уравновешенную посредством 20 мМ фосфата натрия/500 М NaCl, pH 7,4. Затем колонку промывали 25 объемами колонки того же буфера с последующим промыванием 20 объемами колонки 20 мМ фосфата натрия/500 М NaCl/ 25 мМ имидазола, pH 7,4, а затем 35 объемами колонки 20 мМ фосфата натрия/500 М NaCl/40 мМ имидазола, pH 7,4. Белок элюировали 15 объемами колонки 20 мМ фосфата натрия/500 М NaCl/500 мМ имидазола, pH 7,4, фракции объединяли по их поглощению на A₂₅₀ и диализировали против 1x PBS, 50 мМ Tris, 150 мМ NaCl; pH 8,5, или 50 мМ NaOAc; 150 мМ NaCl; pH 4,5. Какой-либо осадок удаляли посредством фильтрации на 0,22 мкм фильтре.

Пример 1. Скрининг исходных связывающих молекул, которые связывают сывороточный альбумин за счет петли «южного полюса» (петли CD)

Для усовершенствования связывающих сывороточный альбумин за счет петли «северного полюса» аднектинов (SABA) первого поколения, которые не связывались с сывороточным альбумином мыши и крысы, не обладали высокой аффинностью к сывороточным альбуминам различных видов и не всегда были совместимы в мультивалентной платформе на основе $^{10}\text{Fn3}$, отбирали при помощи скрининга связывающие сывороточный альбумин за счет петли «южного полюса» аднектины (аднектины PKE2) второго поколения с модифицированными последовательностями петли CD с помощью мРНК-дисплея как описано ниже.

Библиотеки полипептидов связывающих молекул на основе петли CD, содержащих модифицированный $^{10}\text{Fn3}$ домен, подвергали скринингу с помощью мРНК-дисплея (Xu et al., Chem Biol 2002;9:933-42) по способности связываться с сывороточным альбумином человека (HSA). Конструировали связывающие молекулы с петлей CD с различными длинами петли CD до +7 аминокислот, а остальную последовательность $^{10}\text{Fn3}$ оставляли дикого типа. Связывание с целью отслеживали при помощи qPCR и, если наблюдали сигнал специфического связывания, популяции клонировали и экспрессировали в *E. coli*.

Пример 2. Выявление связывающих молекул с петлей CD, способных связывать HSA и вступать в перекрестную реакцию с Rh-SA и MSA

Формат ИФА с непосредственным связыванием использовали для выявления связывающих молекул с петлей CD, которые были получены в Примере 1 и которые связывали HSA и вступали в перекрестную реакцию с сывороточным альбумином макака-резус (Rh-SA) и/или с сывороточным альбумином мыши (MSA). На планшеты для ИФА MaxiSorp™ наносили покрытие посредством 10 мкг/мл либо HSA, либо Rh-SA, либо MSA и очищенные связывающие молекулы с петлей CD тестировали в количестве 1 мкМ. Связавшиеся аднектины детектировали с помощью конъюгированных с HRP mAb к гистидину (R&D Systems) и реагентами для детекции на основе TMB (BD Biosciences). Результаты ИФА подтверждали с помощью системы Biacore как описано ниже. Затем связывающие молекулы с петлей CD, выявленные в эксперименте ИФА как вступающие в перекрестную реакцию с Rh-SA и/или MSA (>2X фон), анализировали с помощью SEC в

отношении агрегации для демонстрации того, что связывание обусловлено мономерной частицей, что и предполагали для стабильного белка с правильной укладкой. Стабильность белка подтверждали с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) как описано ниже.

Один из выявленных клонов, называемый в настоящем документе 2270_C01, имел следующую аминокислотную последовательность:

MASTSGVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGWQVQMYSDWGPLYIYKEF
TVPGSKSTATISGLKPGVDYITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEGDKPSQNNNNNN
(2270_C01; SEQ ID NO: 23)

Петля CD подчеркнута. Петли AB, BC, DE, EF и FG имели последовательности, идентичные человеческому ¹⁰Fn3 домену дикого типа (SEQ ID NO: 1). Проводили анализы на основе эксклюзионной хроматографии и DSC на полученном среднемасштабным способом 2270_C01 для подтверждения мономерности и определения термостабильности.

Проводили стандартную эксклюзионную хроматографию (SEC) на 2270_C01, полученном в результате среднемасштабного процесса. SEC полученного с помощью среднемасштабного способа материала проводили с применением Superdex 200 10/30 или на колонке Superdex 75 10/30 (GE Healthcare) на ВЭЖХ-системе Agilent 1100 или 1200 с УФ-детекцией на A₂₁₄ нм и A₂₈₀ нм и с флуоресцентной детекцией (возбуждение = 280 нм, испускание = 350 нм). Использовали буфер из 100 мМ сульфата натрия, 100 мМ фосфата натрия, 150 мМ хлорида натрия, pH 6,8, с соответствующей скоростью потока в колонке для SEC. Для калибровки по молекулярной массе использовали гельфильтрационные стандарты (Bio-Rad Laboratories, Геркулес, Калифорния). Как показано в Таблице 2, 2270_C01 был преимущественно мономерным (98% мономера).

Проводили анализы на основе дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) полученных с помощью среднемасштабного способа аднектинов для определения их соответствующих T_m. Сканировали 0,5 мг/мл раствор в дифференциальном сканирующем калориметре с VP-капиллярной ячейкой (GE Microcal) путем линейного изменения температуры от 15°C до 110°C со скоростью 1 градус в минуту под давлением 70 psi. Данные анализировали относительно контрольного прогона соответствующего буфера с помощью метода наилучшего приближения с применением программного обеспечения Origin (OriginLab Corp). Как показано в Таблице 2, 2270_C01 имел T_m, равную 64°C.

Для определения кинетики связывания с сывороточным альбумином человека, макака-резус и мыши, а также того, сохранялось ли связывание как при физиологическом, так и при эндосомальном pH, соответствующие сывороточные альбумины иммобилизовали на чипе Biacore CM5 с плотностью распределения по поверхности ~1200 RU с помощью стандартного NHS/EDC связывания. Для иммобилизации альбуминов применяли диапазон концентраций (0,25 нМ - 5 мкМ) 2270_C01 в HBS-P+ (0,01 М HEPES pH 7,4, 0,15 М NaCl, 0,05 об. % поверхностно-активного вещества P-20) или ацетатном (0,02 мМ ацетата натрия, pH 5,5, 0,15 М NaCl, 0,05 об. % поверхностно-активного вещества P-20) подвижных буферах. Кинетические измерения проводили с помощью фазы 3-минуты ассоциации и 6-10 минут диссоциации. Кинетические кривые сенсограмм с вычтенными эталонными значениями приводили в соответствие с 1:1 моделью связывания с помощью программного обеспечения Biaevaluation. Как показано в Таблице 1, 2270_C01 связывался с эквивалентной аффинностью при нейтральном и низком pH с альбумином каждого вида, однако аффинность к альбумину мыши была примерно в 10 раз слабее, чем аффинность связывания к альбумину человека или макака-резус.

Таблица 1: 2270 C01 связывается с MuSA с немного более высокими скоростями ассоциации и значимо более высокими скоростями диссоциации по сравнению с HuSA и RhSA как при pH 7,4, так и при pH 5,5

| Связывание | | | | | |
|-----------------------|-------------|------------------|-----------------|----------------|------------------|
| Буфер | c | ka (1/Мс) | kd (1/с) | KD (нМ) | Rmax (RU) |
| HBS-P, pH 7,4 | HuSA | 6,59E+04 | 3,68E-04 | 5,58 | 121,6 |
| | RhSA | 8,27E+04 | 5,77E-04 | 6,98 | 103,3 |
| | MuSA | 1,34E+05 | 9,09E-03 | 67,67 | 77,64 |
| Ацетат, pH 5,5 | HuSA | 1,02E+05 | 8,98E-04 | 8,82 | 111,9 |
| | RhSA | 5,96E+04 | 1,05E-03 | 17,55 | 85,5 |
| | MuSA | 7,59E+04 | 1,46E-02 | ~192,4 | 57,91 |

Для усовершенствования свойств 2270_C01, а именно прогнозируемой *in silico* иммуногенности, последовательность 2270_C01 подвергали оптимизации с помощью мРНК-дисплея. Полученные в результате такой оптимизации аднектины в настоящем документе называются аднектины РКЕ2.

Пример 3. Создание производных аднектинов 2270 C01 с дополнительно модифицированной петлей CD: аднектинов РКЕ2

Последовательность 2270_C01 подвергали оптимизации с помощью мРНК-дисплея с использованием специально разработанных библиотек для уменьшения потенциала иммуногенности и подвергали скринингу в отношении связывания как с человеческими, так и с сывороточными альбуминами мыши в процессе мРНК-дисплея с целью получения производных молекул с более низкой иммуногенностью, которые сохраняли межвидовое связывание альбумина. Полученные в результате последовательности оценивали в отношении *in silico* прогнозируемой иммуногенности, и лишь клоны, которые имели *in silico* показатель иммуногенности ниже предварительно определенного предела отсечения, использовали в последующей стадии получения белка с помощью методики НТРР. Полученные в результате аднектины очищали с помощью НТРР и подвергали скринингу с помощью ИФА с непосредственным связыванием и SEC-HPLC как описано выше.

Из 308 аднектинов РКЕ2, полученных при скрининге производной 2270_C01 и подвергнутых тестированию, приведенные далее 25 молекул имели наилучшие характеристики в отношении *in silico* прогнозируемой иммуногенности, мономерности, по результатам определения с помощью SEC, и связывания с сывороточным альбумином от различных видов, по результатам определения с помощью ИФА с непосредственным связыванием. Определение аффинности наилучших кандидатов анализировали с помощью SPR как описано выше.

| SEQ ID | Аднектины РКЕ2 | Последовательность (с подчеркнутой петлей CD) |
|--------|----------------|--|
| 24 | 2629_A09 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRHVQIYSDLG</u> <u>PLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGS</u> GESPASSKPISINY RTEIDKPSQNNNNNN |

| | | |
|----|----------|--|
| 25 | 2629_A11 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GRHVHIYSDWG</u> <u>PMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGESPASSKPISINY RTEIDKPSQH H H H H H |
| 26 | 2629_C10 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVQKYSVLG</u> <u>PLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGESPASSKPISINY RTEIDKPSQH H H H H H |
| 27 | 2629_D09 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVQMYSDL</u> <u>GPLYVYSEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKPSQH H H H H H |
| 28 | 2629_E05 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVQKFSDW</u> <u>GPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKPSQH H H H H H |
| 29 | 2629_E06 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVQKYSDLG</u> <u>PLYIYQEF</u> TVPGSKSTATISGLKPGVDY TITVYAVTGSGESPASSKPISINY RTEIDKPSQH H H H H H |
| 30 | 2629_F04 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVHQYSDW</u> <u>GPMYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKPSQH H H H H H |
| 31 | 2629_H01 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVXYYRITY <u>GREVHKNSDW</u> <u>GTLIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVXAVTGSGEXPASSKPISIN YRTEIDKXSQH H H H H H |
| 32 | 2629_H06 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVQKYSDLG</u> <u>PLYIYAEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGESPASSKPISINY RTEIDKPSQH H H H H H |
| 33 | 2629_H07 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVHLYSDW</u> <u>GPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKPSQH H H H H H |
| 34 | 2630_A02 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GRHVQMYSDL</u> <u>GPLYIFSEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGESPASSKPISINY RTEIDKPSQH H H H H H |
| 35 | 2630_A11 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVHMYSDF</u> <u>GPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKPSQH H H H H H |

| | | |
|----|----------|---|
| 36 | 2630_D02 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVQKYS</u> SDW <u>GPLYIYNEFTVPGSK</u> STATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKPSQH ^{HHHHH} |
| 37 | 2630_D10 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVQMYSD</u> L <u>GPLYIYNEFTVPGSK</u> STATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKPSQH ^{HHHHH} |
| 38 | 2630_F04 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVQMYSD</u> L <u>GPLYIYTEFTVPGSK</u> STATISGLKPGVGYTTITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKPSQH ^{HHHHH} |
| 39 | 2630_G03 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GRHVQIYSD</u> LG <u>PLYIYNEFTVPGSK</u> STATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGESPASSKPISIN RTEIDKPSQH ^{HHHHH} |
| 40 | 2630_G10 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVQIYSD</u> WG <u>PLYIYNEFTVPGSK</u> STATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGESPASSKPISIN RTEIDKPSQH ^{HHHHH} |
| 41 | 2630_H03 | MGVSDVPRDLEVVAATXTSLLISWDAPAVTVXYYRITY <u>GREVQKYS</u> SDW <u>GPLYIYQEFTVPGSX</u> STATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKXSQH ^{HHHHH} |
| 42 | 2631_B04 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDVPAVTVRYYRITY <u>GRHVHLYSE</u> FG <u>PMYIYNEFTVPGSK</u> STATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGESPASSKPISIN RTEIDKPSQH ^{HHHHH} |
| 43 | 2631_E03 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GRDVHMYSD</u> W <u>GPMYIYQEFTVPGSK</u> STATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKPSQH ^{HHHHH} |
| 44 | 2631_G01 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GRHVQIYSD</u> WG <u>PLYIYNEFTVPGSK</u> STATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGESPASSKPISIN RTEIDKPSQH ^{HHHHH} |
| 45 | 2631_G03 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GRYVQLYSD</u> W <u>GPMYIYTEFTVPGSK</u> STATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKPSQH ^{HHHHH} |
| 46 | 2631_H09 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GRQVQVFS</u> DLG <u>PLYIYNEFTVPGSK</u> STATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGESPASSKPISIN RTEIDKPSQH ^{HHHHH} |

| | | |
|----|----------|--|
| 47 | 2632_G01 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGRQVQIYSDWG PLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINY RTEIDKPSQHHHHHH |
| 48 | 4079_A04 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGRQVQMYSDW GPLYIYAEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISIN YRTEIDKPSQHHHHHH |

Пример 4. Биофизические свойства аднектинов РКЕ2

Эксклюзионную хроматографию (SEC) проводили как описано выше на двух аднектинах РКЕ2, 2629_E06 и 2630_D02, выявленных при скрининге как такие, которые имели наилучшие свойства в Примере 3. Как показано в Таблице 2, обе молекулы РКЕ2 были преимущественно мономерными.

Проводили анализы на основе дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) двух аднектинов РКЕ2 для определения их соответствующих T_m как описано выше. Как показано в Таблице 2, 2629_E06 и 2630_D02 имели T_m соответственно 56°C и 57°C.

Таблица 2

| Аднектин РКЕ2 | Связывающая петля | SEC (% мономера) | T_m (°C) |
|---------------|-------------------|------------------|------------|
| 2270_C01 | CD | 98% | 64 |
| 2629_E06 | CD | >95% | 56 |
| 2630_D02 | CD | >95% | 57 |

Пример 5. Характеристика связывания аднектинов РКЕ2 с сывороточным альбумином от различных видов

Кинетику связывания сывороточных альбуминов с помощью 2629_E06 и 2630_D02, а также кинетику связывания связывающего сывороточный альбумин за счет петли «северного полюса» аднектина первого поколения, 1318_H04, определяли как описано выше. Кроме того, осуществляли связывание с альбумином в различных условиях pH в диапазоне от pH 5,5 до pH 7,4. Ни у 2629_E06, ни у 2630_D02 не наблюдали зависимость от pH связывания с сывороточным альбумином человека, макака-резус или мыши, что свидетельствовало о том, что они могли сохранять связывание в эндосоме. Как показано в

Таблице 3, 1318_H04 имел более низкую аффинность к сывороточному альбумину человека, яванского макака и макака-резус, относительно 2629_E06 и 2630_D02, и, кроме того, не связывался с сывороточным альбумином мыши или крысы. Более того, 1318_H04 характеризовался в 10 раз более слабой аффинностью к сывороточному альбумину макака-резус, по сравнению с сывороточным альбумином человека, в то время как значения аффинности аднектинов PKE2 к альбуминам от различных видов были относительно эквивалентными.

У обоих аднектинов PKE2, 2629_E06 и 2630_D02, наблюдали существенно более высокую аффинность ко всем протестированным сывороточным альбуминам, относительно 1318_H04, как обсуждалось выше, со значениями K_D для сывороточного альбумина человека, яванского макака, макака-резус и мыши в нижнем наномольном диапазоне. 2629_E06 также характеризовался K_D для сывороточного альбумина крысы в нижнем наномольном диапазоне, а 2630_D02 характеризовался K_D для сывороточного альбумина крысы, равной 200 нМ.

Таблица 3

| Аднектин | Лиганд | k_a (1/Мс) | k_d (1/с) | K_D (нМ) | R_{max} (RU) |
|--|--------------|--------------|--------------------------|--------------|----------------|
| SABA 1318_H04 за счет петли «северного полюса» | HSA (n=4) | 1,10E+04 | 1,58E-03 | 156 ± 72 | 87,0 |
| | cynoSA(n=3) | 7,15E+03 | 2,53E-02 | 4170 ± 2530* | 76,2 |
| | RhSA(n=3) | 7,04E+03 | 2,64E-02 | 4220 ± 2110* | 84,0 |
| | MSA | | нет значимого связывания | | |
| | RatSA | | нет значимого связывания | | |
| Аднектин PKE2 2629_E06 | HSA (n=5) | 6,10E+04 | 1,85E-04 | 3,2 ± 1,6 | 112,7 |
| | cynoSA (n=3) | 7,37E+04 | 2,29E-04 | 3,2 ± 1,5 | 106,8 |
| | RhSA (n=3) | 7,39E+04 | 2,40E-04 | 3,4 ± 1,8 | 99,4 |
| | MSA (n=2) | 2,19E+05 | 5,31E-04 | 2,4 ± 0,4 | 105,4 |
| | RatSA (n=2) | 9,97E+04 | 1,26E-03 | 12,8 ± 2,2 | 89,5 |
| Аднектин PKE2 2630_D02 | HSA (n=4) | 1,67E+05 | 1,62E-04 | 1,0 ± 0,4 | 123,2 |
| | cynoSA (n=3) | 2,08E+05 | 3,35E-04 | 1,6 ± 0,7 | 113,1 |
| | RhSA (n=3) | 2,07E+05 | 3,62E-04 | 1,8 ± 0,8 | 107,4 |
| | MSA | 6,78E+05 | 9,20E-03 | 13,6 | 99,2 |
| | RatSA | 1,50E+05 | 2,99E-02 | 200 | 89,3 |

Пример 6. Конкуренция аднектинов PKE2 с hFcRn за связывание с HSA

Принимая во внимание тот факт, что ингибирование связывания HSA с рецептором hFcRn будет предотвращать рециркуляцию HSA с участием hFcRn и уменьшать длинный период полужизни HSA, таким образом потенциально снижая степень улучшения фармакокинетики, тестировали уровень конкуренции с hFcRn за связывание с HSA для аднектинов PKE2 с помощью конкурентного анализа Alphascreen, который изображен на фиг. 1. Аднектины серийно разводили в буфере для подготовки пробы (50 мМ ацетата / 150 мМ NaCl / 0,1% Tween-20, pH 5,5 + 0,005% пеногасителя-204) до получения необходимого конечного диапазона концентраций для анализа. Мастер-микс белков и гранул для анализа Alphascreen готовили в буфере для подготовки пробы с получением конечных концентраций для анализа 6,5 нМ hFcRn-GST (BMS), 30 нМ биотинилированного сывороточного альбумина человека (Abcam) и 5 мкг/мл как донорных гранул со стрептавидином для анализа Alphascreen, так и акцепторных гранул с глутатионом для анализа AlphaLISA (Perkin Elmer). 10 мкл/лунка серийно разведенного аднектина, с последующими 10 мкл/лунка раствора белки + гранулы добавляли в 384-луночный аналитический планшет с малым объемом лунок (Greiner Bio-one). Гранулы для анализа Alphascreen и все вносимые в аналитический планшет вещества защищали от внешнего освещения. Аналитический планшет герметично закрывали клейкой пленкой из фольги и инкубировали в течение 2-2,5 часа со встряхиванием при комнатной температуре. Планшет считывали в ридере Synergy 4 (Biotek) с возбуждением на 570 нм и испусканием на 680 нм. Средний сигнал от контрольных лунок без аднектина устанавливали как 0% ингибирования и рассчитывали процент ингибирования взаимодействия FcRn-HSA относительно такого сигнала; из всех частных значений данных вычитали средний фоновый сигнал от контрольных лунок без биотинилированного HSA.

В Таблице 4 и фиг. 2 показаны результаты скрининга. В частности, 1318_H04 сильнее конкурировал с hFcRn за связывание с HSA, чем исходный аднектин второго поколения 2270_C01 и аднектины PKE2 2629_E06 и 2630_D02, что свидетельствовало о том, что аднектины PKE2 могут обеспечивать большее улучшение PK по сравнению с 1318_H04.

Помимо этого, с помощью SPR определяли домены на HSA, связываемые 1318_H04, 2629_E06 и 2630_D02. Как показано в Таблице 4, аднектин 1318_H04 связывался с доменом I HSA, а 2270_C01, 2629_E06 и 2630_D02 связывались с доменом I-II HSA, но не отдельным

доменом I, что свидетельствовало о том, что аднектины 1318_H04 и PKE2 связывались с различными эпитопами на HSA. Ни один из показанных в Таблице 4 аднектинов не связывался с доменом III HSA, домен которого является важным участком взаимодействия HSA с FcRn.

Таблица 4

| Аднектин | IC50 конкурентного связывания hFcRn:HSA (нМ) | Домен связывания HuSA по результатам SPR |
|-----------------|---|---|
| 1318_H04 | 8,0 | I |
| 2270_C01 | 37,0 | I-II |
| 2629_E06 | * | I-II |
| 2630_D02 | 28,7 | I-II |
| HuSA | 2941 | |
| HuSA, домен III | >10 мкМ | |

*дозозависимый эффект не насыщался до 2 мкМ, хотя процент ингибирования (т. е. ингибирование связывания hFcRn с HSA) составлял приблизительно 80%.

Пример 7. In vivo период полужизни потенциальных аднектинов PKE2

Аднектины PKE2 2629_E06 и 2630_D02 получали, очищали и удаляли эндотоксин. Мышам дикого типа (n=3/группа) вводили инъекцией либо 2629_E06, либо 2630_D02 в количестве 1 мг/кг в хвостовую вену и определяли концентрацию в образцах крови, взятых через интервалы после инъекции, с помощью количественного ИФА-анализа, который был разработан для детекции аднектина в образцах плазмы крови. В частности, уровни аднектинового лекарственного средства измеряли в плазме крови мыши с помощью платформы на основе технологии Mesoscale или стандартных колориметрических методов ИФА. 2629_E06 и 2630_D02 захватывали с помощью mAb к His (BMS) и детектировали с помощью антисыворотки кролика к аднектиновому каркасу в комбинации с

конъюгированным с HRP pAb козы к антителам кролика. Альтернативно, их детектировали с помощью видоспецифичного альбумина, связывающегося с аднектином, и видоспецифичного вторичного антитела к альбумину с сульфо-меткой. Фармакокинетические параметры каждого аднектина определяли с помощью построения некомпартментной модели с применением программного обеспечения Phoenix WinNonlin.

Сравнивали фармакокинетические профили 2629_E06 и 2630_D02 как показано на фиг. 3 и в Таблице 5. Период полужизни 2629_E06 в плазме крови мыши составлял 33-41 час, в то время как период полужизни 2630_D02 составлял 35-39 часов.

Таблица 5

| Аднектин | T1/2 (ч) | Cl_obs (мл/ч/кг) | Vz_obs (мл/кг) | AUCall (ч*нмоль/л) | MRTINF_pred (ч) |
|----------|------------|---------------------|-------------------|-----------------------|--------------------|
| 2629_E06 | 36,5 ± 3,9 | 6,0 | 318 | 13150 | 45,8 |
| 2630_D02 | 37,6 ± 2,4 | 4,5 | 243 | 17318 | 51,2 |

Пример 8. Иммуногенность аднектинов PKE2

In silico прогнозирование связывания HLA оценивали с помощью программного обеспечения Epimatrix (Epivax). Сравнение показателей показано в Таблице 6. У аднектинов PKE2 2629_E06 и 2630_D09 наблюдали сниженные in silico показатели относительно 2270_C01. Дополнительно, in vitro пролиферацию CD4+ Т-клеток в ответ на 1318_H04, 2270_C01 и аднектины PKE2 оценивали в виде ex vivo оценки потенциальной иммуногенности у человека. Способ градиента плотности фиколла использовали для выделения мононуклеаров периферической крови (PBMC) из цельной крови, полученной от 40 независимых доноров, которые были приведены в соответствие по MHC II класса относительно генеральной совокупности. Клетки от каждого донора после выделения хранили в жидком N2 и оттаивали перед применением. Клетки от каждого донора метили флуоресцентным красителем карбоксифлуоресцеинсукцинимидиловый сложный эфир (CFSE) и инкубировали с представлявшими интерес аднектинами в течение 7 дней при 37 °C. Т-клетки метили антителом к CD4 и оценивали пролиферацию с помощью проточной цитометрии с применением аналитического программного обеспечения BD FACS Canto и

FlowJo. Антигенность белка рассчитывали как процент доноров, у которых наблюдали значимое увеличение пролиферации CD4+ клеток.

Сравнения исходного 2270_C01 и двух его производных 2629_E06 или 2630_D02 выявляло, что исходная молекула имела более высокую антигенность (фиг. 4 и Таблица 6), что свидетельствовало о том, что два производных аднектина PKE2 характеризовались уменьшенным потенциалом иммуногенности относительно исходной молекулы.

Таблица 6

| | <u>Процент</u> | <u>Сила</u> | <u>Показатель</u> | <u>Epimatrix</u> | <u>Петля CD</u> |
|-------------------------------|----------------|----------------------|--------------------|------------------|---------------------------|
| | | <u>ответа</u> | | <u>ответа</u> | |
| <u>Аднектины антигенности</u> | | <u>(Среднее</u> | <u>коэффициент</u> | <u>Петля</u> | <u>последовательность</u> |
| | | <u>положительных</u> | | <u>CD,</u> | |
| | | <u>респондеров)</u> | | <u>CD,</u> | |
| 1381_H04 | 0,08 | 5,23 | 0,39 | | |
| 2270_C01 | 0,73 | 6,82 | 4,95 | 1,71 | WQVQMYSDWGPLYIYK |
| 2629_E06 | 0,16 | 4,04 | 0,64 | -5,63 | REVQKYSDLGPLYIYQ |
| 2630_D02 | 0,26 | 4,16 | 1,10 | -5,98 | REVQKYSWDWGPLYIYN |

Пример 9. Эффекты одноцистеиновых мутантов аднектинов PKE2 на связывание альбумина

В сайты включали отдельные цистеиновые остатки, отличающиеся от HSA-связывающих остатков аднектинов PKE-2, с целью обеспечения возможности химической конъюгации представляющих интерес терапевтических молекул путем стандартных химических реакций с малеимидной группой. Важно было сохранить связывание с сывороточным альбумином (и, таким образом, улучшение ПК) в контексте цистеиновой мутации, поэтому тестировали эффекты таких мутаций на связывание с сывороточным альбумином от различных видов с применением молекулы 2629_E06 в качестве основы для

мутации. Скорость диссоциации (k_{off}) каждого мутанта анализировали посредством SPR-анализа с иммобилизованными альбуминами и аднектинами, которые использовали в качестве анализируемых веществ в количестве 250 нМ. Как показано в Таблице 7, при введении одноцистеиновых мутаций в 2629_E06 наблюдали схожие скорости диссоциации от сывороточных альбуминов у различных видов, как и у исходной молекулы 2629_E06, что указывало на то, что связывание с сывороточным альбумином сохранялось в контексте таких конкретных мутаций. Таким образом, любой из таких цистеиновых мутантов мог служить в качестве партнера химической конъюгации с представляющими интерес терапевтическими молекулами и обеспечивать улучшение ПК.

Таблица 7.

| Описание | Аднектин | Скорость диссоциации HSA (s^{-1}) | Скорость диссоциации RhSA (s^{-1}) | Скорость диссоциации MSA (s^{-1}) | Скорость диссоциации RatSA (s^{-1}) |
|-----------------------------|----------------|---------------------------------------|--|---------------------------------------|---|
| PKE_2-NYRTEIDKPSQH6 | 2629_E06* | 1,69E-04 | 2,19E-04 | 4,01E-04 | 7,67E-04 |
| 2629_E06-NYRTPCH6 | 5916_E03.PS5-2 | 2,11E-04 | 2,72E-04 | 4,52E-04 | 7,86E-04 |
| 2629_E06-NYRTPEDGCH6 | 5916_A04.PS5-2 | 1,48E-04 | 1,72E-04 | 3,07E-04 | 5,47E-04 |
| MGCSTSGVSD-2629_E06-NYRTPH6 | 5963_A02.PS5-2 | 2,53E-04 | 3,13E-04 | 4,92E-04 | 9,02E-04 |
| 2629_E06(S55C)-NYRTPH6 | 5963_C03.PS5-2 | 2,29E-04 | 3,03E-04 | 4,63E-04 | 7,89E-04 |
| 2629_E06(A12C)-NYRTPH6 | 5963_D01.PS5-2 | 2,47E-04 | 3,13E-04 | 4,99E-04 | 8,58E-04 |
| 2629_E06(T58C)-NYRTPH6 | 5963_E01.PS5-2 | 2,50E-04 | 3,13E-04 | 5,07E-04 | 8,48E-04 |
| 2629_E06(T56C)-NYRTPH6 | 5963_E02.PS5-2 | 2,28E-04 | 2,84E-04 | 4,61E-04 | 7,60E-04 |
| 2629_E06(A26C)-NYRTPH6 | 5963_F03.PS5-2 | 2,51E-04 | 3,12E-04 | 5,04E-04 | 8,25E-04 |

Пример 10. Биофизические свойства одноцистеиновых мутантов 2629 E06

Оценивали биофизические свойства одноцистеиновых мутантов, описанных в Примере 9, и результаты показаны в Таблице 8. Каждый мутант давал термически стабильный и мономерный белок.

Таблица 8

| <u>Мутант</u> | <u>Буфер</u> | <u>Конц. (мг/мл)</u> | <u>Доступность белка (мг)</u> | <u>SEC</u> | <u>ASSA (M)</u> | <u>DSC (°C в кол- ве 0,5 мг/мл)</u> |
|--------------------------------|---------------------|---------------------------------|--|-------------------|----------------------------|--|
| 2629_E06(A26C)- NYRTPH6 | PBS | 2,3 | 4,1 | >99% мономер | 1,72 | 65,5 |
| 2629_E06- NYRTPCH6 | PBS | 2,6 | 4,7 | >99% мономер | 1,77 | 67,2 |
| 2629_E06(T56C)- NYRTPH6 | PBS | 2,7 | 4,8 | >99% мономер | 1,72 | 68,3 |
| 2629_E06(T58C)- NYRTPH6 | PBS | 2,4 | 4,3 | >99% мономер | 1,72 | 68,7 |
| 2629_E06(A12C)- NYRTPH6 | PBS | 2,8 | 5,1 | >99% мономер | 1,70 | 68,2 |
| 2629_E06(S55C)- NYRTPH6 | PBS | 2,4 | 4,2 | >99% мономер | 1,75 | 69,4 |
| 2629_E06- NYRTPEDDGCH6 | PBS | 0,7 | 1,3 | >90% мономер | 1,73 | 70,5 |
| MGCSTSGVSD-2629 E06-NYRTPH6 | PBS | 1,6 | 2,8 | >90% мономер | 1,71 | 67,8 |

Пример 11. Модульность тандемных молекул аднектина PKE2

Одним из ограничений связывающих сывороточный альбумин за счет петли «северного полюса» аднектинов было отсутствие совместимости для применения в тандеме с другими ¹⁰Fn3 белками. Поэтому исследовали совместимость аднектинов PKE2 с другими ¹⁰Fn3 белками. Тестировали биофизические характеристики аднектинов PKE2 при гибридизации в тандеме с аднектином, который был специфичен к другой цели. Тестировали аднектины PKE2 в обоих возможных конфигурациях: в N-концевом расположении (PKE2-X) и в C-концевом расположении (X-PKE2). Характеристики, получаемые с помощью эксклюзионной хроматографии, тестировали с применением молекул, полученных с помощью НТРП способа. Гибриды с аднектином первого поколения 1318_H04 с петлей «северного полюса» непосредственно сравнивали с гибридами с

аднектинами PKE2 2629_E06 и 2630_D02. Тестируемые партнеры гибридизации включали связывающий миостатин ¹⁰Fn3 домен (2987_H07; см. WO2014/043344), два связывающих PCSK9 ¹⁰Fn3 домена (2013_E01 и 2382_D09) и связывающий EGFR ¹⁰Fn3 домен (1312_E01). Последовательности аднектинов PCSK9 2382_D09 и 2013_E01 можно найти в WO2011/130354, которая включена в настоящий документ с помощью ссылки. Как показано в Таблице 9, молекулы обоих аднектинов PKE2 постоянно сохраняли хорошие биофизические характеристики, что отражалось в доле молекул с SEC классом А (т. е. который соответствует тому, что $\geq 90\%$ являются мономерными аднектинами), относительно молекулы SABA 1318_H04 с петлей «северного полюса», в контексте тандемного аднектина. PKE в таблице относится к связывающему сывороточный альбумин ¹⁰Fn3 домену (т. е. улучшающему ПК ¹⁰Fn3 домену). Соотношения представляют собой число клонов с SEC=A/общее число протестированных клонов. Тандемы, которые не были созданы, обозначены «-».

Таблица 9

| % тандемов PKE с SEC = A | | | | | | | | | |
|---------------------------------|-----------------|-----------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|-------------------------|--------------|
| Аднектин | | 2987_H07 (Myo) | | 2013_E01 (PCSK9) | | 1312_E01 (EGFR) | | 2382_D09 (PCSK9) | |
| Ориентация | | X-PKE | PKE-X | X-PKE | PKE-X | X-PKE | PKE-X | X-PKE | PKE-X |
| PKE | 1318_H04 | 31 (8/26) | 0 (0/26) | 31 (8/26) | - | - | - | 8 (8/26) | - |
| | 2629_E06 | 30 (3/10) | 80 (8/10) | 90 (9/10) | 80 (8/10) | 70 (7/10) | 70 (7/10) | 58 (51/88) | - |
| | 2630_D02 | 20 (2/10) | 60 (6/10) | 50 (5/10) | 80 (8/10) | 70 (7/10) | 70 (7/10) | - | - |

Данные на фиг. 5 отражают данные, представленные в Таблице 9, для связывающего 2987_H07 миостатин ¹⁰Fn3 домена и связывающего 2013_E01 PCSK9 ¹⁰Fn3 домена, за исключением того, что различные оттенки серого отражают способность тандемных молекул уменьшать связывание с HSA, по результатам определения в анализе ИФА непосредственным связыванием, который описан выше. Различные оттенки серого на фиг. 5 соответствуют различным соотношениям EC₅₀_тандемного аднектина/EC₅₀_моноаднектина в отношении связывания с HSA, причем более темные оттенки представляют более сильное связывание тандемных молекул с HSA. Из данных на

фиг. 5 видно, что PKE2-тандемные молекулы имели лучшую мономерность (т. е. были менее склонны к димеризации и агрегации) и связывание с HSA (т. е. теряли меньше связывания с HSA и RhSA) относительно аднектина 1318_H04. Схожие картины наблюдали с четырьмя дополнительными связывающими цель аднектинами. Из этих данных видно, что аднектины PKE2 представляют собой более стабильный и активный партнер связывания с другими ¹⁰Fn3 белками, чем связывающие сывороточный альбумин за счет петли «северного полюса» аднектины.

Пример 12. Тандемные молекулы PCSK9-PKE2 характеризуются хорошей активностью в биохимических анализах PCSK9, низкими показателями EpiMatrix, хорошими биофизическими свойствами и межвидовым связыванием альбумина

Получали различные тандемные аднектины PCSK9-PKE2 на основе аднектина PKE2 2629_E06 и аднектина PCSK9 2382_D09, которые показаны в Таблице 10. Каждая из тандемных молекул отличались лишь линкером, и их все тестировали в отношении их биофизических и функциональных свойств для подтверждения сохранения активностей как связывающего альбумин PKE2, так и связывающего PCSK9 аднектина. Межвидовое связывание альбумина определяли с помощью способа ИФА, который описан выше. Относительную термостабильность оценивали с помощью термической сканирующей флуоресцентной спектроскопии (TSF). Образцы из НТТР нормализовали к 0,2 мг/мл в PBS. 1 мкл красителя Sypro orange, разведенного 1:40 при помощи PBS, добавляли к 25 мкл каждого образца и запечатывали планшет прозрачной клейкой лентой для 96-луночных микропланшетов. Образцы сканировали с помощью RT-PCR машины BioRad путем линейного изменения температуры с 25°C до 95°C со скоростью 2 градуса в минуту. Данные анализировали с помощью программного обеспечения BioRad CFX manager 2.0. Было показано, что полученные с помощью TSF значения хорошо коррелировали со значениями T_m, полученными с помощью DSC, в диапазоне плавления 40°C - 70°C. Его считают приемлемым рабочим диапазоном для такой методики. Результат ND («нет данных») получали в случае, когда угловой коэффициент кривой фазового перехода был слишком мал для того, чтобы можно было отличить его производный пик (скорость изменения флуоресценции со временем) от шума.

С помощью FRET анализа PCSK9:EGFA измеряли ингибирование связывания PCSK9 с доменом, подобным предшественнику эпидермального фактора роста (EGFA-доменом), рецептора липопротеинов низкой плотности (LDLR) с применением рекомбинантного PCSK9 человека, который экспрессировался в бакуловирусе, и синтетического EGFA-пептида из 40 мономеров (биотинилированного). Было показано, что EGFA представляет собой ключевой домен взаимодействия LDLR с PCSK9 (Kwon, H.J. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 105(6): 1820-1825 (2008)). Этот анализ предусматривал применение mAb, связывающегося с С-концевым доменом PCSK9 (mAb 4H5), меченного Eu-хелатом, обеспечивающим взаимодействие FRET с биотинилированным EGFA посредством флуорофор-содержащего комплекса стрептавидин/аллофикоцианин. FRET анализ PCSK9-LDLR проводили аналогичным образом с использованием внеклеточного домена LDLR вместо пептида EGFA.

Все тандемные молекулы обладали низкой иммуногенностью (отрицательным показателем Erimatrix), высокой мономерностью (по оценке с помощью SEC), приемлемой относительной термостабильностью (TSF) и благоприятным межвидовым связыванием альбумина по оценке с помощью ИФА-анализа. Кроме того, тандемные аднектины PCSK9-PKE2 сохраняли хорошую активность в биохимических анализах PCSK9 со значениями IC₅₀, схожими с непереформатированным аднектином 2382_D09.

Таблица 10

| Тандем PCSK9-РКЕ2 | Линкер | Erimatrix | Конц, (мкг/мл) | SEC | TSF | HuSA EC50 (нМ) | RhSA EC50 (нМ) | MuSA EC50 (нМ) | EGFA FRET 1 (IC50, нМ) | EGFA FRET 2 (IC50, нМ) | PCSK9: LDLR FRET (IC50, нМ) |
|----------------------|-------------------|-----------|-------------------|-----|------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| 4472_E09 | A | -12,3 | 3490 | A | 58,5 | 23,8 | 19,8 | 7,0 | 5,81 | 4,81 | 1,3 |
| 4472_A11 | B | -21,2 | 4530 | A | 61 | 26,9 | 15,7 | 3,9 | 6,13 | 3,76 | 1,4 |
| 4472_H09 | C | -10,2 | 2410 | A | 62,5 | 27,8 | 26,8 | 4,0 | 9,66 | 7,17 | 3 |
| 4472_F04 | D | -18,8 | 3410 | A | 60,5 | 40,3 | 27,8 | 3,8 | 3,99 | 4,18 | 1,2 |
| 4472_C08 | E | -14,4 | 2880 | A | 60 | 40,4 | 25,7 | 4,8 | 9,38 | 5,09 | 1,9 |
| 4472_F08 | F | -13,0 | 5050 | A | 61 | 55,4 | 35,2 | 7,3 | 7,88 | 5,88 | 2,5 |
| 4472_F06 | G | NA | 4450 | A | 61 | 58,9 | 40,8 | 11,3 | 4,50 | 3,42 | 1,1 |
| 4472_G10 | H | -15,7 | 1694 | A | 61 | 61,3 | 48,3 | 10,0 | 7,81 | 6,81 | 2,4 |
| 4472_E06 | I | -15,4 | 4810 | A | 60 | 67,3 | 40,1 | 4,2 | 7,67 | 5,68 | 1,6 |
| 4472_B10 | J | -5,4 | 1299 | A | 59,5 | 67,7 | 38,9 | 10,9 | 9,69 | 6,97 | 2,2 |
| 4472_B09 | K | -3,4 | 2230 | A | 59,5 | 69,2 | 45,1 | 9,8 | 9,36 | 6,95 | 2,4 |
| 4472_B11 | L | -11,5 | 835 | A | 59,0 | 70,1 | 54,0 | 13,5 | 6,54 | 5,03 | 2 |
| 4472_A06 | M | -7,0 | 3720 | A | 58 | 77,8 | 44,4 | 8,6 | 9,06 | 2,72 | 1,6 |
| 4472_D08 | N | -13,1 | 4140 | A | 60 | 80,2 | 54,1 | 9,5 | 6,32 | 5,22 | 1,7 |
| 4472_B05 | O | -6,2 | 639 | A | 57,5 | 85,1 | 59,5 | 9,3 | 6,66 | 5,55 | 1,9 |
| 4472_H11 | P | -1,7 | 1099 | A | nd | 85,3 | 58,1 | 13,2 | 8,76 | 6,24 | 1,3 |
| 4472_E04 | Q | -5,6 | 1244 | A | 60,5 | 100,9 | 64,8 | 8,9 | 9,45 | 7,54 | 2 |
| 4472_E05 | R | -2,5 | 933*** | A | 54,5 | 102,2 | 63,1 | 13,1 | 5,66 | 4,35 | 1,5 |
| 4472_B03 | S | -7,9 | 1239 | A | 59 | 123,5 | 98,2 | 14,8 | 7,45 | 4,83 | 1,4 |
| 4472_D06 | T | -17,7 | 2850 | A | 61,5 | 139,2 | 93,1 | 15,6 | 8,12 | 6,51 | 1,8 |
| 4472_A04 | U | -6,6 | 1142 | A | nd | 143,7 | 84,0 | 16,7 | 5,14 | 4,44 | 1,1 |
| 4472_C06 | PSTPPTPSPSTPPTPSP | -19,6 | 6760 | A | 61 | 184,3 | 131,1 | 15,6 | 9,18 | 3,09 | 1,4 |
| ADX_2382_D0 | n/a | | | | 83 | n/a | n/a | n/a | 19,70 | 10,6 | 2,3 |
| ADX_2629_E0 | n/a | | | | 56 | 14,5 | 10,5 | 2,8 | n/a | n/a | n/a |

Пример 13. Кинетика связывания tandemных молекул PCSK9-PKE2 с PCSK9

человека

Связывание tandemного аднектина PCSK9-PKE2 с иммобилизованным PCSK9 человека измеряли в присутствии или в отсутствии HSA с помощью интерферометрии биослоя (Octet Red 96, с помощью наконечников с датчиками Superstreptavidin, ForteBio, Менло-Парк, Калифорния). События ассоциации и диссоциации захватывали в реальном времени для серии концентраций аднектина при помощи биотинилированных полноразмерных PCSK9, захваченных на наконечниках с датчиками. Кривые связывания приводили в целом в соответствии с получением значений K_D , k_{on} и k_{off} .

Комплексы tandemный аднектин-HSA предварительно формировали путем инкубирования тандема в избытке и проведения анализа связывания в случае избыточного HSA. Считали, что комплекс между комплексами tandemный аднектин-HSA и PCSK9 человека сформировался, если имела место повышенная кажущаяся масса для tandemных аднектинов в случае HSA в той же концентрации (см., например, фиг. 6). Как показано в Таблице 11, все протестированные tandemные молекулы PCSK9-PKE2 имели схожую кинетику связывания и активности в отношении PCSK9. Наблюдали небольшое уменьшение для ассоциации и немного более быструю диссоциацию для комплекса HSA-аднектин, связывающегося с huPCSK9.

Таблица 11

| Таблица данных связывания PCSK9:аднектин PKE2 | | | | | | |
|--|------------|-----------------|-----------------|------------|-----------------|-----------------|
| | без HSA | | | +HSA | | |
| | K_D (нМ) | k_{on} (1/Мс) | k_{off} (1/с) | K_D (нМ) | k_{on} (1/Мс) | k_{off} (1/с) |
| 4472_F08 | 0,404 | 2,89E+05 | 1,18E-04 | 0,902 | 1,61E+05 | 1,48E-04 |
| 4472_E06 | 0,724 | 2,81E+05 | 2,00E-04 | 1,003 | 2,07E+05 | 2,09E-04 |
| 4472_C06 | 0,515 | 3,36E+05 | 1,68E-04 | 1,547 | 1,97E+05 | 3,05E-04 |

Пример 14. Характеристика связывания тандемных молекул PCSK9-PKE2 с сывороточным альбумином от различных видов

Аффинности тандемных молекул PCSK9-PKE2 в отношении сывороточного альбумина от различных видов, наряду с аффинностью аднектина PKE2 2629_E06, оценивали с помощью анализа Biacore, как описано в Примере 2.

Как показано в Таблице 12, у всех трех тандемных молекул PCSK9-PKE2 наблюдали сравнимые аффинности к сывороточным альбуминам среди видов, при этом аффинности у тандемов были в 5-7 раз слабее (со схожими скоростями диссоциации) в сравнении с аднектином PKE2 2629_E06.

Таблица 12

| Тандемный аднектин | Связывание с | ka (1/Мс) | kd (1/с) | KD (нМ) | Rmax (RU) |
|--------------------|--------------|-----------|----------|---------|-----------|
| 2629_E06 | HuSA | 1,74E+04 | 2,13E-04 | 12,3 | 106,8 |
| | RhSA | 1,95E+04 | 2,83E-04 | 14,5 | 86,24 |
| | MuSA | 6,84E+04 | 2,42E-04 | 3,6 | 97,99 |
| 4472_F08 | HuSA | 4,82E+03 | 3,24E-04 | 67,1 | 187,8 |
| | RhSA | 5,34E+03 | 3,67E-04 | 68,7 | 157,9 |
| | MuSA | 1,35E+04 | 3,44E-04 | 25,5 | 166,7 |
| 4472_E06 | HuSA | 5,30E+03 | 3,62E-04 | 68,4 | 215,4 |
| | RhSA | 5,77E+03 | 4,15E-04 | 71,9 | 181,4 |
| | MuSA | 1,50E+04 | 3,00E-04 | 20,0 | 186,2 |
| 4472_C06 | HuSA | 3,92E+03 | 2,89E-04 | 73,7 | 182,5 |
| | RhSA | 4,38E+03 | 3,37E-04 | 77,0 | 155,9 |
| | MuSA | 1,15E+04 | 3,01E-04 | 26,1 | 163,1 |

Схожий эксперимент (в условиях, которые описаны в Примере 2) проводили с тандемным аднектином 4472_C06 без 6X гистидинового хвоста (называемым 5190_E01). Как показано в Таблице 13, 5190_E01 связывался с сывороточным альбумином мыши с K_D , аналогичной таковой для сывороточного альбумина человека, яванского макака и макака-резус, и связывался с сывороточным альбумином крысы с K_D , равной 200 нМ.

Таблица 13

| Тандемный аднектин | Лиганд | ka (1/Мс) | kd (1/с) | KD (нМ) | Rmax(RU) |
|--------------------|--------------|-----------|----------|------------|----------|
| 5190_E01(по6XHis) | HSA(n=4) | 4,79E+03 | 2,72E-04 | 57,2 ± 8,6 | 173,2 |
| | суноSA (n=3) | 6,44E+03 | 3,26E-04 | 50,5 ± 5,4 | 168,5 |
| | RhSA (n=3) | 6,52E+03 | 3,51E-04 | 53,8± 8,8 | 158,7 |
| | MSA | 1,67E+04 | 7,23E-04 | 43,3 | 148,8 |
| | Rat SA | 7,35E+03 | 1,47E-03 | 200 | 139,7 |

Также тестировали эффекты pH на связывание аднектина PKE2 2629_E06 и тандемных аднектинов PCSK9-PKE2 4472_C06, 4427_E06 и 4472_F08. Как показано в Таблицах 14 и 15, у всех протестированных аднектинов наблюдали pH-независимое связывание с сывороточным альбумином от различных видов.

Таблица 14

| Аднектин | Буфер | Связывание с | ka (1/Мс) | kd (1/с) | KD (М) | Rmax (RU) | Chi ² (RU ²) |
|--------------------------------|----------------|--------------|-----------|----------|--------|-----------|-------------------------------------|
| Аднектин PKE2 2629_E06 | HBSP, pH7,4 | HUSA | 2,07E+04 | 2,19E-04 | 10,6 | 101,7 | 1,8 |
| | | RhSA | 2,18E+04 | 2,76E-04 | 12,7 | 91,41 | 1,51 |
| | | MuSA | 7,91E+0,4 | 2,72E-04 | 3,43 | 101,1 | 1,87 |
| | Ацетат, pH 7,4 | HUSA | 2,80E+0,4 | 2,72E-04 | 9,74 | 112,9 | 4,64 |
| | | RhSA | 2,79E+04 | 3,28E-04 | 11,8 | 100,8 | 3,75 |
| | | MuSA | 7,68E+04 | 2,68E-04 | 3,48 | 105,2 | 2,34 |
| | Ацетат, pH 5,5 | HuSA | 7,04E+04 | 3,26E-04 | 4,64 | 88,62 | 3,25 |
| | | RhSA | 4,85E+04 | 5,84E-04 | 12,0 | 68,33 | 1,05 |
| | | MuSA | 8,40E+04 | 1,25E-03 | 14,9 | 87,71 | 4,1 |
| Тандем PCSK9-PKE2 ADX_4472_C06 | HBSP, pH7,4 | HuSA | 3,58E+03 | 2,58E-04 | 72,0 | 167,5 | 4,02 |
| | | RhSA | 3,86E+03 | 3,05E-04 | 78,9 | 154,3 | 3,62 |
| | | MuSA | 1,19E+04 | 3,36E-04 | 28,2 | 157,1 | 2,64 |
| | Ацетат, pH 7,4 | HuSA | 4,35E+03 | 3,25E-04 | 74,7 | 170,1 | 7,34 |
| | | RhSA | 4,51E+03 | 3,64E-04 | 80,7 | 161,2 | 5,58 |
| | | MuSA | 1,08E+04 | 3,75E-04 | 34,8 | 160,7 | 2,53 |
| | Ацетат, pH 5,5 | HuSA | 1,22E+04 | 4,66E-04 | 38,2 | 143,1 | 6,01 |
| | | RhSA | 8,36E+03 | 8,15E-04 | 97,5 | 105,2 | 1,6 |
| | | MuSA | 1,31E+04 | 1,61E-03 | 123 | 132,3 | 7,08 |
| Тандем PCSK9-PKE2 4472_E06 | HBSP, pH7,4 | HuSA | 4,76E+03 | 2,92E-04 | 61,4 | 181,2 | 8,92 |
| | | RhSA | 5,11E+03 | 3,32E-04 | 64,9 | 166 | 7,94 |
| | | MuSA | 1,52E+04 | 3,30E-04 | 21,8 | 172,6 | 6,43 |
| | Ацетат, pH 7,4 | HuSA | 5,91E+03 | 3,83E-04 | 64,9 | 185,6 | 17,1 |
| | | RhSA | 6,24E+03 | 4,08E-04 | 65,4 | 173,8 | 12,8 |
| | | MuSA | 1,41E+04 | 3,68E-04 | 26,1 | 177,4 | 6,35 |
| | Ацетат, pH 5,5 | HuSA | 1,36E+04 | 4,78E-04 | 35,2 | 164,1 | 12,4 |
| | | RhSA | 8,64E+03 | 7,88E-04 | 91,1 | 137,5 | 3,73 |
| | | MuSA | 1,34E+04 | 1,52E-03 | 114 | 164 | 14,5 |

Таблица 15

| Аднектин | Буфер | Связывание с | ka | kd (1/c) | KD (M) | Rmax | Chi ² |
|--------------------------------|----------------|--------------|-----------|----------|--------|-------|------------------|
| PKE2 Аднектин 2629_E06 | HBSP, pH 7,4 | HuSA | 1,79E+04 | 1,92E-04 | 10,7 | 107,0 | 0,9 |
| | | RhSA | 2,35E+04 | 2,67E-04 | 11,4 | 108,2 | 1,8 |
| | | MuSA | 7,96E+04 | 2,62E-04 | 3,3 | 100,9 | 1,2 |
| | Ацетат, pH 7,4 | HuSA | 2,54E+04 | 2,43E-04 | 9,6 | 114,6 | 2,7 |
| | | RhSA | 2,86E+04 | 2,97E-04 | 10,4 | 116,0 | 3,0 |
| | | MuSA | 4,49E+04 | 5,03E-04 | 11,2 | 81,0 | 1,2 |
| | Ацетат, pH 5,5 | HuSA | 7,07E+04 | 2,87E-04 | 4,1 | 95,1 | 3,9 |
| | | RhSA | 4,49E+04 | 5,03E-04 | 11,2 | 81,0 | 1,2 |
| | | MuSA | 7,70E+04 | 1,13E-03 | 14,6 | 85,3 | 3,2 |
| Тандем PCSK9- PKE2 4472_F08 | HBSP, pH 7,4 | HuSA | 3,59E+03 | 3,01E-04 | 83,8 | 185,4 | 4,4 |
| | | RhSA | 4,82 E+03 | 3,46E-04 | 71,7 | 191,2 | 9,1 |
| | | MuSA | 1,37E+04 | 3,59E-04 | 26,3 | 164,4 | 4,1 |
| | Ацетат, pH 7,4 | HuSA | 4,61E+03 | 3,87E-04 | 83,9 | 176,3 | 8,9 |
| | | RhSA | 5,38E+03 | 4,05E-04 | 75,4 | 194,2 | 10,2 |
| | | MuSA | 1,16E+04 | 4,07E-04 | 35,0 | 165,1 | 2,7 |
| | Ацетат, pH 5,5 | HuSA | 1,11E+04 | 4,89E-04 | 43,9 | 187,1 | 10,1 |
| | | RhSA | 7,40E+03 | 8,18E-04 | 110,5 | 161,0 | 2,6 |
| | | MuSA | 1,10E+04 | 1,50E-03 | 136,6 | 156,5 | 7,2 |

Пример 15. Двойное связывание тандемных аднектинов PCSK9-PKE2 с альбуминами и PCSK9

Способность тандемных аднектинов PCSK9-PKE2 одновременно связываться с сывороточным альбумином и PCSK9 оценивали с помощью SPR. По-видимому, тандем будет связываться с альбумином большей частью *in vivo*, и поэтому при связывании с альбумином будет необходимо сохранение активности аднектина PCSK9. Связывание тандемных аднектинов PCSK9-PKE2 одновременно с обеими целями тестировали в режиме двойной инъекции с первой инъекцией тандема на иммобилизованный альбумин на поверхности чипа, за которой следовала вторая инъекция PCSK9 человека и регистрация уровней связывания после 3-минутной фазы ассоциации для каждой инъекции. Повышение сигнала связывания в SPR при инъекции PCSK9 относительно буфера свидетельствовало об одновременном связывании тандема с HSA и PCSK9, как показано на фиг. 7. У PCSK9

наблюдали ~40% ожидаемого уровня связывания с 500 нМ или 1 мкМ tandemного аднектина, предварительно связанного с HSA. В качестве дополнительного контроля, у PCSK9 не наблюдали связывания только с PKE-2 (данные не показаны).

Пример 16. In vivo выведение аднектинов PCSK9-PKE2 у мышей WT C57 BL/6

In vivo период полужизни tandemного аднектина PCSK9-PKE2 4772_C06 определяли в 2-недельном исследовании с одной внутривенной дозой 2 мг/кг на мышах C57 BL/6 дикого типа. Уровни в плазме tandemного аднектина определяли с помощью платформы MesoScale Discovery. Биотинилированный PCSK9 человека использовали для захвата аднектина, а детекцию осуществляли при помощи сывороточного альбумина мыши, связавшегося с tandemом, и вторичного pAb с сульфо-меткой к сывороточному альбумину мыши. Некомпаратментные анализы проводили с помощью Phoenix WinNonlin 6.3 (Pharsight Corporation, Маунтин-Вью, Калифорния) с применением способа линейно-логарифмического расчета и моделирования условий плазмы. Как показано в Таблице 16 и на фиг. 8, средний период полужизни tandemного аднектина 4772_C06 составлял 16,7 часа.

Таблица 16

| штамм | доза | mouse_ID | HL_Lambda _z (ч) | CI_obs (мл/ч/кг) | Vss_obs (мл/кг) | AUCall (ч*нмоль/л) | AUCINF_obs (ч*моль/л) | AUC_%Extrap_ obs (%) | MRTINF _obs (ч) |
|---------|---------|----------|---------------------|---------------------|--------------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------|
| C57BL/6 | 2 мг/кг | N | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| | | Среднее | 16,7 | 4,39 | 92,0 | 18657 | 18787 | 0,69 | 21,0 |
| | | SD | 1,0 | 0,21 | 4,0 | 868 | 893 | 0,10 | 1,5 |
| | | SE | 0,6 | 0,12 | 2,3 | 501 | 515 | 0,06 | 0,9 |
| | | CV% | 6 | 4,8 | 4,4 | 4,7 | 4,8 | 15,1 | 7,4 |

Пример 17. Tandемные аднектины PCSK9-PKE2 характеризовались робастным захватом цели PCSK9 in vivo

Фармакодинамическую активность tandemного аднектина PCSK9-PKE2 4472_C06 оценивали на мышинной модели, трансгенной по PCSK9 человека, которая характеризовалась нормальными уровнями PCSK9 человека. Эта модель представляла собой геномный трансгенный hPCSK9 (BAC-трансгенный), который регулировался в печени аналогично PCSK9 мыши и который экспрессировался с почти нормальными для человека уровнями hPCSK9 в плазме. Несвязанный hPCSK9 оценивали после однократной внутрибрюшинной дозы PBS в качестве наполнителя или 0,5 или 2 мг/кг тандема с 8

животными на группу. Был разработан твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА), специфичный к свободному (несвязанному) PCSK9 человека, который не детектировал PCSK9 мыши. Этот анализ предусматривал использование предварительно обработанных стрептавидином 96-луночных планшетов, покрытых 2 мкг/мл биотинилированного PCSK9-аднектина 2013_E01 в качестве захватывающего реагента. Образцы плазмы, замороженные лишь не более одного раза, разводили надлежащим образом в буфере для ИФА (25 мМ Tris, 150 мМ NaCl, pH 7,2 с 0,05% Tween-20 и 0,1% BSA), добавляли в лунки и инкубировали в течение 1 часа при 20°C. Затем лунки промывали и инкубировали с 5 мкг/мл поликлонального IgG кролика к PCSK9 человека (разработанное BMS антитело, произведенное компанией Lampire Biological Labs, Пайперсвилл, Пенсильвания) в течение 1 часа с последующей обработкой HRP-меченным антителом к IgG кролика с ТМБ с помощью стандартных для ИФА способов. Строили стандартные кривые с помощью очищенного рекомбинантного PCSK9 человека.

Как показано на фиг. 9, результаты анализа уровней свободного hPCSK9 свидетельствовали о сильном захвате цели tandemным аднектином PCSK9-PKE2 в обеих тестируемых дозах. Свободный hPCSK9 ингибировался дозозависимым образом, что было видно по большей длительности ответа на 2 мг/кг дозу относительно 0,5 мг/кг дозы. Из этих данных видна *in vivo* активность tandemного аднектина PCSK9-PKE2.

Пример 18. In vivo период полужизни моноаднектинов PKE2 и tandemных аднектинов PCSK9-PKE2 у яванских макаков

PK/PD исследования с однократной дозой проводили на нормальных худых самках яванского макака со сравнениями тандема PCSK9-PKE2 с моноаднектином PKE2 или препаратом сравнения, который представлял собой пэгилированный аднектин PCSK9, в мольных эквивалентах дозы, которые указаны при помощи штриховки в приведенной ниже Таблице 17. Аднектин PKE2 2629_E06, или аднектин 5190_E01, который представлял собой tandem PCSK9-PKE2, или пэгилированный аднектин PCSK9 (называемый ATI-1476) в качестве препарата сравнения, вводили яванским макакам в указанных концентрациях и указанными путями (см. Таблицу 17 и фиг 10) и собирали образцы плазмы крови (K2EDTA) и сыворотки через промежутки времени для фармакокинетической и фармакодинамической оценки. Уровни аднектинового лекарственного средства измеряли в плазме крови мыши с

помощью платформы на основе технологии Mesoscale. 2629_E06 захватывали посредством антител к His (BMS) и детектировали с помощью связанного с аднектином сывороточного альбумина макака и вторичного pAb с сульфо-меткой к сывороточному альбумину яванского макака. Для анализов тандемов биотинилированный PCSK9 человека использовали для захвата аднектина, а детекцию осуществляли при помощи альбумина яванского макака как описано выше. Пэгиллированный аднектин ATI-1476 захватывали посредством биотинилированного hPCSK9 и детектировали посредством mAb к ПЭГ (Epitomics) в конъюгации с pAb козы с сульфо-меткой к антителу кролика. Некомпаратментные анализы проводили с помощью Phoenix WinNonlin 6.3 (Pharsight Corporation, Маунтин-Вью, Калифорния) с применением способа линейно-логарифмического расчета и моделирования условий плазмы.

Как показано в Таблице 17, периоды полужизни 2629_E06 и ATI-1476 в плазме были эквивалентными и составляли 112 часов. Период полужизни 5190-E01 был короче периода полужизни моноаднектина PKE2 и варьировал в диапазоне от 60 до 82 часов после внутривенного введения. 5190_E01 характеризовался дозопропорциональным воздействием в промежутке от 3 до 10 мг/кг внутривенных доз (AUC_{ALL} соотношение 1,02). Для всех протестированных белков объем распределения был меньше объема плазмы, что свидетельствовало о том, что распределение тандемного аднектина PCSK9-PKE2 и пэгиллированного аднектина было в основном ограничено пространством сосудов. Выведение в целом было низким и сравнимым для различных доз и форматов. Подкожная биодоступность тандемного аднектина 5190_E01 составляла 41-49%.

Таблица 17

| Формат | Доза | HL_Lambda_z (ч) | Cl_obs (мл/ч/кг) | Vss_obs (м ³ /кг) | AUCall (ч*мкмоль/л) | AUCINF_obs (ч*мкмоль/л) | AUC_%Extrap_obs (%) | MRTINF_obs (ч) |
|----------------------------------|-------------|--------------------|---------------------|------------------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|-------------------|
| Тандем PCSK9-PKE2 5190_E01 | 3 мг/кг SC | | | | 92 ± 17 | 92 ± 17 | 0,54 ± 0,4 | |
| | 3 мг/кг IV | 82 ± 5,1 | 0,55 ± 0,03 | 57 ± 4,3 | 222 ± 24 | 234 ± 12 | 5,45 ± 5,4 | 104,6 ± 2,5 |
| | 10 мг/кг IV | 60 ± 6,5 | 0,58 ± 0,09 | 50 ± 6,8 | 754 ± 98 | 769 ± 103 | 1,76 ± 1,4 | 87,3 ± 10,4 |
| PCSK9-PEG ATI-1476 | 5 мг/кг IV | 112 ± 7,6 | 0,46 ± 0,08 | 65 ± 10 | 1000 ± 14 | 1008 ± 14 | 0,70 ± 0,5 | 141,6 ± 7,6 |

| | | | | | | | | |
|------------------|--------------|-----------|-------------|----------|----------|----------|------------|-----------|
| РКЕ2 2629_E06 | 1,5 мг/кг IV | 112 ± 7,3 | 0,37 ± 0,05 | 56 ± 5,2 | 305 ± 49 | 328 ± 45 | 6,92 ± 6,6 | 152 ± 8,2 |
|------------------|--------------|-----------|-------------|----------|----------|----------|------------|-----------|

Также в отдельном исследовании у яванских макаков тестировали фармакокинетику исходного аднектина 2270_C01. Уровни аднектинового лекарственного средства количественно оценивали как описано выше для РК исследований на мышах. Как показано в Таблице 18 и на фиг. 11, аднектин 2270_C01 имел период полужизни 83,5 часа после однократной внутривенной болюсной дозы 1 мг/кг.

Таблица 18

| | HL_Lambda_z (ч) | Vz_obs (мл/кг) | Cl_obs (мл/ч/кг) | AUCINF_obs (ч*нмоль/л) | MRTINF_obs (ч) |
|--------|-----------------|-------------------|---------------------|---------------------------|----------------|
| N | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Средн. | 83,5 | 22,319 | 0,185 | 419981,536 | 102,847 |
| SD | 8,632 | 2,819 | 0,004 | 9680,781 | 1,888 |
| SE | 6,104 | 1,993 | 0,003 | 6845,346 | 1,335 |
| Мин | 77,4 | 20,33 | 0,18 | 413136,19 | 101,51 |
| Макс | 89,6 | 24,31 | 0,19 | 426826,88 | 104,18 |
| CV% | 10,3 | 12,6 | 2,3 | 2,3 | 1,8 |

Пример 19. Тандемный аднектин PCSK9-РКЕ2 функционировал как ингибитор PCSK9 у яванских макаков

Результаты описанного выше РК/PD исследования на яванских макаках оценивали в отношении фармакодинамических эффектов ингибирования PCSK9. Были разработаны твердофазные иммуоферментные анализы (ИФА), специфичные для PCSK9 яванского макака. Анализ свободного (несвязанного) PCSK9 предусматривал использование платформы MesoScale Discovery и включал предварительно обработанные стрептавидином 96-луночные MSD планшеты, покрытые 2 мкг/мл биотинилированного PCSK9-аднектина 2013_E01 в качестве захватывающего реагента. Образцы разводили 1:4 блокирующим и меченным сульф-меткой поликлональным IgG кролика к PCSK9 человека (разработанное BMS антитело, произведенное компанией Lampire Biological Labs, Пайперсвилл, Пенсильвания), добавляли в лунки и инкубировали в течение 10 минут при комнатной температуре. Затем лунки промывали и считывали с применением 2X буфера для

считывания MSD. ИФА анализ общего PCSK9 проводили аналогично описанному выше, за исключением того, что mAb-4H5 (разработанное BMS антитело, произведенное компанией Lampire Biological Labs, Пайперсвилл, Пенсильвания) включали в качестве антитела для захвата, а стадию детектирования выполняли отдельно от стадии захвата. MAb-4H5 связывалось с С-концевым доменом PCSK9 и в связанном с 96-луночными планшетами состоянии эффективно захватывало общий PCSK9 (как комплекс аднектин-PCSK9, так и свободный PCSK9). В ходе стадий захвата и детекции общего PCSK9 проводили инкубацию в течение 1 часа. Строили стандартные кривые с помощью очищенного рекомбинантного PCSK9 человека или яванского макака.

Аналиты сыворотки анализировали на системе Siemens Advia 1800 Clinical Chemistry System с помощью стандартных ферментативных процедур. LDL-холестерин оценивали с помощью прямого способа оценки LDL (Roche Diagnostics). Другие тестируемые аналиты представляли собой следующие: аспаратаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, щелочная фосфатаза, гамма-глутамилтрансфераза, общий билирубин, азот мочевины крови, креатинин, общий холестерин, триглицерид, липопротеин высокой плотности, липопротеин низкой плотности, глюкоза, общий белок, альбумин, глобулин, соотношение альбумин/глобулин, кальций, неорганический фосфор, натрий, калий, хлор.

Как показано на фиг. 12, у 5190_E01 наблюдали фармакодинамические эффекты в отношении несвязанного/свободного PCSK9, общего PCSK9 и LDL-с, которые ранее наблюдали с другими ингибиторами аднектина PCSK9. В частности, наблюдали быстрый захват цели, при котором свободный PCSK9 резко падал до недетектируемых уровней в пределах 1 часа после введения дозы. LDL-с снижался до ~50% исходного уровня в результате ингибирования PCSK9, при этом максимальное ингибирование наблюдали в рамках 2-5-дневного интервала. Кроме того, общий PCSK9 возрастал по мере накопления комплекса аднектин PCSK9-PKE2:PCSK9. После диссоциации комплекса и выведения лекарственного средства уровни PCSK9 и LDL-с возвращались к исходному уровню через ~15 дней исследования. Сходную тенденцию наблюдали с препаратом сравнения, представлявшим собой пэгилированный аднектин PCSK9. Как показано на фиг. 13, 5190_E01 характеризовался сходным робастным снижением LDL-с при 10 мг/кг, как и молярный эквивалент дозы препарата сравнения, представлявшего собой пэгилированный аднектин PCSK9.

Пример 20. Зависимость от дозы при захвате цели PCSK9

Дозозависимый ответ ингибирования свободного PCSK9 наблюдали в дозах 3 и 10 мг/кг 5190_E01, как показано на фиг. 14. Доза 10 мг/кг характеризовалась более длительным периодом захвата цели PCSK9, чем доза 3 мг/кг. На этой фигуре также проиллюстрирован эквивалентный захват цели PCSK9 для мольных эквивалентов дозы для тандемного и пэгилированного аднектинов. Как и ожидали, 2629_E06 не изменял свободный PCSK9; любое наблюдаемое отклонение свободного PCSK9, по всей вероятности, было связано с суточным ритмом и вариабельностью исходного уровня.

На фиг. 15 проиллюстрировано отличие эффектов тандемного и пэгилированного аднектинов PCSK9 на общий PCSK9. Несмотря на то, что общая тенденция была такой же, общий PCSK9 возрастал и возвращался к исходному уровню быстрее у макак, которым была введена доза 5190_E01, относительно препарата сравнения, который представлял собой пэгилированный аднектин PCSK9, что свидетельствовало об иных механизмах выведения для комплекса PCSK9:аднектиновое лекарственное средство в зависимости от используемого способа улучшения ПК (выведение почками для тандема в сравнении с поглощением макрофагами для пэгилированного аднектина). И в этом случае также, как и ожидали, в этом анализе у 2629_E06 не наблюдали фармакодинамического эффекта.

Пример 21. Тандемный формат характеризовался эквивалентным *in vitro* иммуногенным ответом относительно компонентов

In vitro оценку потенциальной иммуногенности проводили для нескольких тандемных аднектинов PCSK9-PKE2 с помощью анализа пролиферации Т-клеток, как описано в Примере 8.

Как показано на фиг. 16, процент и степень иммуногенного ответа на тандемные аднектины были схожими с таковыми для моноаднектиновых компонентов (т. е. PCSK9 или PKE2; середина фиг. 16). Эти результаты свидетельствовали о минимальном риске/полном отсутствии риска иммуногенности для тандемных аднектинов в сравнении с моноаднектинами. Кроме того, различия в пролиферативном ответе на тандемы наблюдали в зависимости от последовательности линкера, соединявшего аднектины PCSK9 и PKE2. Относительно тандемных аднектинов PCSK9-PKE2 4472_F08 и 4472_E06, у тандемного аднектина 4472_C06 наблюдали наиболее низкую иммуногенность. Одним потенциальным

механизмом для таких наблюдаемых отличий могли быть отличия в переработке белка Т-клетками в ответ на последовательности линкера.

Сводка свойств 4472_C06 представлена ниже в Таблице 19.

Таблица 19

| Свойство | Система | 4472_C06 |
|-------------------------------|--------------------------------------|--|
| Молекулярная масса | | Белок 25 кДа |
| Биофизическое | Теплостабильность, T_m | 55°C |
| | Мономерность | >99% |
| PCSK9 KD (37°C) | Человек, яванский макак | 0,14 нМ, 39 нМ (сердцевина, Octet Red) |
| KD альбумина (37°C) | Человек, яванский макак, мышь, крыса | 57 нМ, 51 нМ, 43 нМ, 200 нМ |
| Биохимическая активность | PCSK9:EGFA FRET, человек | 1,5 нМ |
| Клеточная активность | Поглощение PCSK9 | 19 нМ (сердцевина) 21 нМ (тандем) |
| | Истощение LDLR | 9,4 нМ (тандем) |
| Прогнозируемая иммуногенность | Пролиферация PBMC | Средняя/низкая (сердцевина/тандем) |
| | Erimatrix | Низкая |
| | Содерж. послед. 10Fn3 WT | Высокая |
| PK | Трансгенная или WT мышь | 17-24 ч |
| | Яванский макак | 82 ч |
| Вязкость | В необходимой концентрации | Низкая |

Иллюстративные варианты осуществления

1. Полипептид, содержащий десятый домен фибронектина III типа ($^{10}\text{Fn3}$), причем $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит а) петли АВ, ВС, CD, DE, EF и FG, б) петлю CD с измененной аминокислотной последовательностью по отношению к последовательности соответствующей петли CD человеческого $^{10}\text{Fn3}$ домена, и с) причем полипептид связывается с сывороточным альбумином человека с K_D менее 500 нМ.

2. Полипептид по варианту осуществления 1, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен дополнительно связывается с одним или несколькими из сывороточного альбумина макака-резус,

сывороточного альбумина яванского макака, сывороточного альбумина мыши и сывороточного альбумина крысы.

3. Полипептид по варианту осуществления 2, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывается с сывороточным альбумином макака-резус и сывороточным альбумином яванского макака.

4. Полипептид по варианту осуществления 3, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывает сывороточный альбумин макака-резус и сывороточный альбумин яванского макака с K_D менее 500 нМ.

5. Полипептид по варианту осуществления 4, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывает сывороточный альбумин макака-резус и сывороточный альбумин яванского макака с K_D менее 100 нМ.

6. Полипептид по варианту осуществления 5, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывает сывороточный альбумин макака-резус и сывороточный альбумин яванского макака с K_D менее 10 нМ.

7. Полипептид по любому из предыдущих вариантов осуществления, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывает сывороточный альбумин мыши и крысы.

8. Полипептид по варианту осуществления 7, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывает сывороточный альбумин макака-резус и сывороточный альбумин яванского макака с K_D менее 500 нМ.

9. Полипептид по варианту осуществления 8, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывает сывороточный альбумин макака-резус и сывороточный альбумин яванского макака с K_D менее 100 нМ.

10. Полипептид по варианту осуществления 9, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывает сывороточный альбумин макака-резус и сывороточный альбумин яванского макака с K_D менее 10 нМ.

11. Полипептид по любому из предыдущих вариантов осуществления, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывает сывороточный альбумин в диапазоне рН от 5,5 до 7,4.

12. Полипептид по любому из предыдущих вариантов осуществления, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывается с доменом I-II HSA.

13. Полипептид по любому из предыдущих вариантов осуществления, причем период полужизни в сыворотке полипептида в присутствии сывороточного альбумина человека составляет по меньшей мере 30 часов.

14. Полипептид по любому из предыдущих вариантов осуществления, причем петля CD содержит аминокислотную последовательность, соответствующую формуле G-X₁-X₂-V-X₃-X₄-X₅-S-X₆-X₇-G-X₈-X₉-Y-X₁₀-X₁₁-X₁₂-E, где,

- (a) X₁ выбран из группы, состоящей из R или W;
- (b) X₂ выбран из группы, состоящей из H, E, D, Y или Q;
- (c) X₃ выбран из группы, состоящей из Q или H;
- (d) X₄ выбран из группы, состоящей из I, K, M, Q, L или V;
- (e) X₅ выбран из группы, состоящей из Y, F или N;
- (f) X₆ выбран из группы, состоящей из D, V или E;
- (g) X₇ выбран из группы, состоящей из L, W или F;
- (h) X₈ выбран из группы, состоящей из P или T;
- (i) X₉ выбран из группы, состоящей из L или M;
- (j) X₁₀ выбран из группы, состоящей из I или V;
- (k) X₁₁ выбран из группы, состоящей из Y или F; и
- (l) X₁₂ выбран из группы, состоящей из T, S, Q, N или A.

15. Полипептид по варианту осуществления 14, где:

- (a) X₁ представляет собой R;
- (b) X₂ представляет собой E;
- (c) X₃ представляет собой Q;
- (d) X₄ представляет собой K;
- (e) X₅ представляет собой Y;
- (f) X₆ представляет собой D;
- (g) X₇ представляет собой L или W;
- (h) X₈ представляет собой P;
- (i) X₉ представляет собой L;
- (j) X₁₀ представляет собой I;
- (k) X₁₁ представляет собой Y; и
- (l) X₁₂ представляет собой Q или N.

16. Полипептид по варианту осуществления 15, где X₁₀ представляет собой L, а X₁₂ представляет собой Q.

17. Полипептид по варианту осуществления 15, где X_{10} представляет собой W, а X_{12} представляет собой N.

18. Полипептид по варианту осуществления 14, причем петля CD содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 101-125.

19. Полипептид по любому из предыдущих вариантов осуществления, причем петля CD содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 106.

20. Полипептид по любому из предыдущих вариантов осуществления, причем петля CD содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 113.

21. Полипептид по любому из предыдущих вариантов осуществления, причем полипептид содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную отличным от петли CD участкам SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260.

22. Полипептид по любому из предыдущих вариантов осуществления, причем полипептид содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260.

23. Гибридный полипептид, содержащий десятый домен фибронектина III типа ($^{10}\text{Fn3}$) и гетерологичный белок, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит а) петли AB, BC, CD, DE, EF и FG, б) петлю CD с измененной аминокислотной последовательностью по отношению к последовательности соответствующей петли человеческого $^{10}\text{Fn3}$ домена, и с) причем полипептид связывается с сывороточным альбумином человека с K_D менее 500 нМ.

24. Гибридный полипептид по варианту осуществления 23, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную любой из SEQ ID NO: 23-100, 184-209 и 235-260.

25. Гибридный полипептид по варианту осуществления 24, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную SEQ ID NO: 55, 81, 190 или 241.

26. Гибридный полипептид по варианту осуществления 25, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 55, 81, 190 или 241.

27. Гибридный полипептид по варианту осуществления 24, причем ¹⁰Fn3 домен содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную SEQ ID NO: 62, 88, 197 или 248.

28. Гибридный полипептид по варианту осуществления 27, причем ¹⁰Fn3 домен содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 62, 88, 197 или 248.

29. Гибридный полипептид по варианту осуществления 23, причем гетерологичный белок представляет собой терапевтический фрагмент.

30. Гибридный полипептид по варианту осуществления 23, причем гетерологичный белок представляет собой полипептид, содержащий ¹⁰Fn3 домен.

31. Гибридный полипептид по варианту осуществления 30, причем ¹⁰Fn3 домен связывается с целевым белком, отличным от сывороточного альбумина.

32. Гибридный полипептид по варианту осуществления 31, причем ¹⁰Fn3 домен связывается с PCSK9.

33. Гибридный полипептид по варианту осуществления 32, причем ¹⁰Fn3 домен содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную SEQ ID NO: 167.

34. Гибридный полипептид по варианту осуществления 33, причем ¹⁰Fn3 домен содержит аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 167.

35. Гибридный полипептид по варианту осуществления 23, причем гибридный полипептид содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную SEQ ID NO: 168, 169 или 261.

36. Гибридный полипептид по варианту осуществления 35, причем гибридный полипептид содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO 168, 169 или 261.

37. Гибридный полипептид по любому из вариантов осуществления 23-36, причем период полужизни в сыворотке полипептида в присутствии сывороточного альбумина мыши составляет по меньшей мере 10 часов.

38. Гибридный полипептид по любому из вариантов осуществления 23-36, причем период полужизни в сыворотке полипептида в присутствии сывороточного альбумина яванского макака составляет по меньшей мере 50 часов.

39. Полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 23-125, 184-209 и 235-260, 168 и 169.

40. Композиция, содержащая полипептид по любому из предыдущих вариантов осуществления и носитель.

41. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая полипептид по любому из вариантов осуществления 1-39.

42. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 41, причем молекула нуклеиновой кислоты имеет последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-151 и 172, или нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична ей.

43. Вектор экспрессии, содержащий нуклеотидную последовательность по вариантам осуществления 41 или 42.

44. Клетка, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по варианту осуществления 41 или 42 или вектор экспрессии по варианту осуществления 43.

45. Способ получения полипептидов по любому из вариантов осуществления 1-39, предусматривающий культивирование клетки по варианту осуществления 44 в условиях, подходящих для экспрессии полипептида, и очистку полипептида.

Таблица 20: Обзор последовательностей

| SEQ ID | Описание | Последовательность |
|--------|--|--|
| 1 | Человеческий ¹⁰ Fп3 домен дикого типа | VSDVPRDLEVVAAT <u>PTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGET</u> <u>GGNSPVQEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGR</u> GDSPASSKPISINYRT |
| 2 | Человеческий ¹⁰ Fп3 домен дикого типа с описанными в целом петлевыми последовательности ми | VSDVPRDLEVVAAX _n LLISW(X) _v YYRITY(X) _w FTV(X) _x A TISGL(X) _y YTITVYAV(X) _z ISINYRT |
| 3 | N-концевая лидерная последовательность | MGVSDVPRDL |
| 4 | N-концевая лидерная последовательность | GVSDVPRDL |
| 5 | N-концевая лидерная последовательность | X _n SDVPRDL |
| 6 | N-концевая лидерная последовательность | X _n DVPRDL |
| 7 | N-концевая лидерная последовательность | X _n VPRDL |
| 8 | N-концевая лидерная последовательность | X _n PRDL |

| | | |
|----|---|--------------------|
| 9 | N-концевая лидерная последовательность | X _n RDL |
| 10 | N-концевая лидерная последовательность | X _n DL |
| 11 | N-концевая лидерная последовательность | MASTSG |
| 12 | C-концевая хвостовая последовательность | EIEK |
| 13 | C-концевая хвостовая последовательность | EGSGC |
| 14 | C-концевая хвостовая последовательность | EIEKPCQ |
| 15 | C-концевая хвостовая последовательность | EIEKPSQ |
| 16 | C-концевая хвостовая последовательность | EIEKP |
| 17 | C-концевая хвостовая последовательность | EIEKPS |
| 18 | C-концевая хвостовая последовательность | EIEKPC |

| | | |
|----|---|---|
| 19 | С-концевая хвостовая последовательность | EIDK |
| 20 | С-концевая хвостовая последовательность | EIDKPCQ |
| 21 | С-концевая хвостовая последовательность | EIDKPSQ |
| 22 | 6X His-хвостовая метка | HHHHHH |
| 23 | Аднектин PKE2 2270_C01 (аминокислотная последовательность) | MASTSGVPRDLEVVAAT <u>P</u> TSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>G</u> WQVQMYSDWGPLYIYKEFTVPGSKSTATISGLK <u>P</u> GV YTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEGDKPSQHNNHHHH |
| 24 | Аднектин PKE2 2629_A09 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAAT <u>P</u> TSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>G</u> <u>R</u> HVQIYSDLGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 25 | Аднектин PKE2 2629_A11 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAAT <u>P</u> TSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>G</u> <u>R</u> HVHIYSDWGPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 26 | Аднектин PKE2 2629_C10 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAAT <u>P</u> TSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>G</u> <u>R</u> EVQKYSVLGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 27 | Аднектин PKE2 2629_D09 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAAT <u>P</u> TSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>G</u> <u>R</u> EVQMYSDLGPLYVYSEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |

| | | |
|----|---|---|
| 28 | Аднектин РКЕ2 2629_E05 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQKFSDWGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 29 | Аднектин РКЕ2 2629_E06 (аминокислотная последовательность) (также называемый АТИ-1490) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQKYSDLGPLYIYQEF</u> TVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 30 | Аднектин РКЕ2 2629_F04 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVHQYSDWGPMYIYNEF</u> TVPGSKSTATISGLKPGVDYT ITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 31 | Аднектин РКЕ2 2629_H01 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVXYYRITYG <u>REVHKNSDWGTLIYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVXAVTGSGEXPASSKPISINYRTEIDKXSQHNNHHHH |
| 32 | Аднектин РКЕ2 2629_H06 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQKYSDLGPLYIYAEF</u> TVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 33 | Аднектин РКЕ2 2629_H07 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVHLYSDWGPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 34 | Аднектин РКЕ2 2630_A02 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RHVQMYSDLGPLYIFSEF</u> TVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 35 | Аднектин РКЕ2 2630_A11 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVHMYSDFGPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |

| | | |
|----|---|---|
| 36 | Аднектин РКЕ2 2630_D02 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQKYS</u> DWGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 37 | Аднектин РКЕ2 2630_D10 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQMYSD</u> LGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 38 | Аднектин РКЕ2 2630_F04 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQMYSD</u> LGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVGYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 39 | Аднектин РКЕ2 2630_G03 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RHVQIYSD</u> LGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 40 | Аднектин РКЕ2 2630_G10 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQIYSD</u> WGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 41 | Аднектин РКЕ2 2630_H03 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATXTSLLISWDAPAVTVXYYRITY <u>GREVQKYS</u> DWGPLYIYQEFTVPGSXSTATISGLKPGVDY TITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKXSQHNNHHHH |
| 42 | Аднектин РКЕ2 2631_B04 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDVPAVTVRYYRITYG <u>RHVHLYSE</u> FGPMYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |
| 43 | Аднектин РКЕ2 2631_E03 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RDVHMYSD</u> WGPMYIYQEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY TITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHHH |

| | | |
|----|--|---|
| 44 | Аднектин ПКЕ2 2631_G01 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RHVQIYSDWGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHH |
| 45 | Аднектин ПКЕ2 2631_G03 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RYVQLYSDWGPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYT</u> ITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHH |
| 46 | Аднектин ПКЕ2 2631_H09 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RQVQVFSDLGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHH |
| 47 | Аднектин ПКЕ2 2632_G01 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RQVQIYSDWGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHH |
| 48 | Аднектин ПКЕ2 4079_A04 (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RQVQMYSDWGPLYIYAEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYT</u> ITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHNNHHH |
| 49 | 2270_C01 без HIS- метки (аминокислотная последовательность) | MASTSGVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GWQVQMYSDWGPLYIYKEFTVPGSKSTATISGLKPGVD</u> YTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEGDKPSQ |
| 50 | 2629_A09 без HIS- метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RHVQIYSDLGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 51 | 2629_A11 без HIS- метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RHVHIYSDWGPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |

| | | |
|----|---|--|
| 52 | 2629_C10 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQKYSVLGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 53 | 2629_D09 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQMYSDLGPLYVYSEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 54 | 2629_E05 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQKFSDWGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 55 | 2629_E06 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQKYSDLGPLYIYQEF</u> TVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 56 | 2629_F04 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVVHQYSDWGPMYIYNE</u> FTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI ITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 57 | 2629_H01 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVXYYRITYG <u>REVVHKNSDWGTLIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVXAVTGSGEXPASSKPISINYRTEIDKXSQ |
| 58 | 2629_H06 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVQKYSDLGPLYIYAE</u> FTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 59 | 2629_H07 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>REVVHLYSDWGPMYIYTE</u> FTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |

| | | |
|----|---|--|
| 60 | 2630_A02 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYG <u>RHVQMYSDLGPLYIFSEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 61 | 2630_A11 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYG <u>REVHMYSDFGPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 62 | 2630_D02 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYG <u>REVQKYSDWGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 63 | 2630_D10 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYG <u>REVQMYSDLGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 64 | 2630_F04 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYG <u>REVQMYSDLGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVGYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 65 | 2630_G03 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYG <u>RHVQIYSDLGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTIT</u> VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 66 | 2630_G10 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYG <u>REVQIYSDWGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 67 | 2630_H03 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATXTSLLISWDAPAVTVXYRITY <u>GREVQKYSDWGPLYIYQEFTVPGSXSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKXSQ |

| | | |
|----|---|---|
| 68 | 2631_B04 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDVPAVTVRYYRITYG <u>RHVHLYSEFGPMYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 69 | 2631_E03 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RDVHMYSDWGPMYIYQEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 70 | 2631_G01 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RHVQIYSDWGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 71 | 2631_G03 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RYVQLYSDWGPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYT</u> ITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 72 | 2631_H09 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RQVQVFSDLGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 73 | 2632_G01 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RQVQIYSDWGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 74 | 4079_A04 без HIS-метки (аминокислотная последовательность) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>RQVQMYSDWGPLYIYAEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYT</u> ITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQ |
| 75 | 2270_C01, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYG <u>WQVQMYSDW</u> <u>GPLYIYKEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG</u> ESPASSKPISINYRT |

| | | |
|----|---|--|
| 76 | 2629_A09, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRHVQIYSDLG</u> <u>PLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGES PASSKPISINYRT |
| 77 | 2629_A11, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRHVHIYSDWG</u> <u>PMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGE SPASSKPISINYRT |
| 78 | 2629_C10, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQKYSVLG</u> <u>PLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGES PASSKPISINYRT |
| 79 | 2629_D09, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQMYSDLG</u> <u>PLYVYSEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGE SPASSKPISINYRT |
| 80 | 2629_E05, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQKFSDWG</u> <u>PLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGES PASSKPISINYRT |
| 81 | 2629_E06, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQKYSDLG</u> <u>PLYIQEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSGE SPASSKPISINYRT |
| 82 | 2629_F04, сердцевинная последовательность | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVHQYSDW</u> <u>GPMYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSG ESPASSKPISINYRT |

| | | |
|----|---|--|
| | (аминокислотная последовательность) | |
| 83 | 2629_H01, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVXYYRITY <u>GREVHKNSDW</u> <u>GTLYIYTE</u> FETVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVXAVTGSG EXPASSKPISINYRT |
| 84 | 2629_H06, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVQKYSDLG</u> <u>PLYIYAE</u> FETVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE SPASSKPISINYRT |
| 85 | 2629_H07, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVHLYSDW</u> <u>GPMYIYTE</u> FETVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG ESPASSKPISINYRT |
| 86 | 2630_A02, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVATTPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GRHVQMYSDLG</u> <u>PLYIFSE</u> FETVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGES PASSKPISINYRT |
| 87 | 2630_A11, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVHMYSDFG</u> <u>PMYIYTE</u> FETVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE SPASSKPISINYRT |
| 88 | 2630_D02, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITY <u>GREVQKYSDW</u> <u>GPLYIYNE</u> FETVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG ESPASSKPISINYRT |

| | | |
|----|---|--|
| 89 | 2630_D10, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQMYSDLG</u> <u>PLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRT |
| 90 | 2630_F04, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQMYSDLG</u> <u>PLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVGYTITVYAVTGSGES</u> PASSKPISINYRT |
| 91 | 2630_G03, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRHVQIYSDLG</u> <u>PLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRT |
| 92 | 2630_G10, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQIYSDWG</u> <u>PLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRT |
| 93 | 2630_H03, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATXTSLLISWDAPAVTVXYYRITY <u>GREVQKYSDW</u> <u>GPLYIYQEFTVPGSXSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG</u> ESPASSKPISINYRT |
| 94 | 2631_B04, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDVPAVTVRYRITY <u>GRHVHLYSEFG</u> <u>PMYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRT |
| 95 | 2631_E03, сердцевинная последовательность | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRDVHMYSDW</u> <u>GPMYIYQEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG</u> ESPASSKPISINYRT |

| | | |
|-----|---|---|
| | (аминокислотная последовательность) | |
| 96 | 2631_G01, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRHVQIYSDWG</u> <u>PLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRT |
| 97 | 2631_G03, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRYVQLYSDW</u> <u>GPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG</u> ESPASSKPISINYRT |
| 98 | 2631_H09, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GROVQVFSDLG</u> <u>PLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRT |
| 99 | 2632_G01, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GROVQIYSDWG</u> <u>PLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRT |
| 100 | 4079_A04, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GROVQMYSDW</u> <u>GPLYIYAEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG</u> ESPASSKPISINYRT |
| 101 | 2629_A09, петля CD | GRHVQIYSDLGPLYIYTE |
| 102 | 2629_A11, петля CD | GRHVHIYSDWGPMYIYTE |
| 103 | 2629_C10, петля CD | GREVQKYSVLGPLYIYTE |
| 104 | 2629_D09, петля CD | GREVQMYSDLGPLYVYSE |
| 105 | 2629_E05, петля CD | GREVQKFSDWGPLYIYTE |
| 106 | 2629_E06, петля CD | GREVQKYSDLGPLYIYQE |

| | | |
|-----|---|---|
| 107 | 2629_F04, петля CD | GREVHQYSDWGPMYIYNE |
| 108 | 2629_H01, петля CD | GREVHKNSDWGTLIYITE |
| 109 | 2629_H06, петля CD | GREVQKYSDLGPLYIAE |
| 110 | 2629_H07, петля CD | GREVHLYSDWGPMYIYTE |
| 111 | 2630_A02, петля CD | GRHVQMYSDLGPLYIFSE |
| 112 | 2630_A11, петля CD | GREVHMYSDFGPMYIYTE |
| 113 | 2630_D02, петля CD | GREVQKYSDWGPLYIYNE |
| 114 | 2630_D10, петля CD | GREVQMYSDLGPLYIYNE |
| 115 | 2630_F04, петля CD | GREVQMYSDLGPLYIYTE |
| 116 | 2630_G03, петля CD | GRHVQIYSDLGPLYIYNE |
| 117 | 2630_G10, петля CD | GREVQIYSDWGPLYIYNE |
| 118 | 2630_H03, петля CD | GREVQKYSDWGPLYIYQE |
| 119 | 2631_B04, петля CD | GRHVHLYSEFGPMYIYNE |
| 120 | 2631_E03, петля CD | GRDVHMYSDWGPMYIYQE |
| 121 | 2631_G01, петля CD | GRHVQIYSDWGPLYIYNE |
| 122 | 2631_G03, петля CD | GRYVQLYSDWGPMYIYTE |
| 123 | 2631_H09, петля CD | GRQVQVFSDLGPLYIYNE |
| 124 | 2632_G01, петля CD | GRQVQIYSDWGPLYIYNE |
| 125 | 4079_A04, петля CD | GRQVQMYSDWGPLYIAE |
| 126 | 2270_C01 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGCTAGCACTAGTGGCGTGCCGCGCGACTTGGAAG TGGTTGCCGCGACCCCGACGTCTCTGCTTATTAGCTGG GATGCACCTGCCGTCACAGTGAGATATTATCGCATTAC ATATGGTTGGCAGGTTTCAGATGTACTCTGACTGGGGTC CGCTGTACATCTACAAAGAGTTCACGGTACCTGGGAG CAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGTCTCAAACCTGGA GTTGATTACACCATTACGGTATACGCAGTCACCGGCTC TGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATT AATTATCGGACCGAAGGCGACAAACCATCCCAGCACC ATCACCACCACCACTGA |

| | | |
|-----|---|---|
| 127 | 2629_A09 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGACGGCATGTTTCAGATCTATTCTGACTTAGGCCCGC TGACATCTACACAGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAA GTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTT GATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGG AGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAAT TACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATC ACCACCACCACTGA |
| 128 | 2629_A11 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTAGACACGTTTCATATCTACTCAGACTGGGGTCCG ATGTACATCTACACAGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 129 | 2629_C10 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGGAGAGAGGTTTCAGAAATACTCTGTCTTGGGTCCA CTGTACATATAACCGGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 130 | 2629_D09 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGGAGGGAGGTTTCAGATGTACTCTGACTTGGGTCCA |

| | | |
|-----|---|--|
| | | <p>TTGTACGTATACAGCGAGTTCACCTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA</p> |
| 131 | 2629_E05 (последовательность нуклеиновой кислоты) | <p>ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTCCGGGAGGTACAGAAGTTCTCGGACTGGGGTCCG CTGTACATCTACACAGAGTTCACCTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA</p> |
| 132 | 2629_E06 (последовательность нуклеиновой кислоты) | <p>ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGCAGGGAGGTTTCAGAAGTACTCGGACTTGGGTCCG TTGTACATCTACCAAGAGTTCACCTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA</p> |
| 133 | 2629_F04 (последовательность нуклеиновой кислоты) | <p>ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTAGGGAGGTTTCATCAATACTCTGACTGGGGTCCG ATGTACATCTACAACGAGTTCACCTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA</p> |

| | | |
|-----|---|---|
| | | TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 134 | 2629_H01 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCRATATTACCGCATCACTTA CGGTCGGGAGGTTTCATAAGAAGTTCAGACTGGGGTACG CTGTACATCTACACAGAGTTCAGTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTRTGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGARCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAAMCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 135 | 2629_H06 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGACGGGAGGTTTCAGAAGTATTTCAGACTTGGGTCCA CTGTACATCTACGCAGAGTTCAGTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 136 | 2629_H07 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGGCGGGAGGTCCACCTGTACTCCGACTGGGGGCCG ATGTACATCTACACAGAGTTCAGTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |

| | | |
|-----|---|--|
| 137 | 2630_A02 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTACCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTAGGCACGTTCAAATGTA CTCTGACCTTGGTCCGT TG TACATCTTCAGTGAGTTC ACTGTGCCTGGGAGCAAG TCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTG ATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGA GAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATT ACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCA CCACCACCACTGA |
| 138 | 2630_A11 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGACGGGAGGTTTCATATGTA CTCTGACTTCGGTCCG ATGTACATATACACAGAGTTC ACTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 139 | 2630_D02 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTAGAGAAGTTCAGAAATACTCTGACTGGGGCCCG CTCTACATCTACAATGAGTTC ACTGTGCCTGGGAGCAA GTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTT GATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGG AGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAAT TACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATC ACCACCACCACTGA |
| 140 | 2630_D10 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTCGGGAGGTTTCAGATGTA CTCTGGACTTGGGTCCG |

| | | |
|-----|---|--|
| | | CTCTACATCTACAACGAGTTCCTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 141 | 2630_F04 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTAGAGAGGTCCAGATGTACTCAGACTTGGGGCCG CTGTACATCTATACAGAGTTCCTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGGTTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 142 | 2630_G03 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGACGGCATGTTTCAGATCTACTCCGACTTGGGTCTC TGTATATCTACAATGAGTTCCTGTGCCTGGGAGCAA GTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTT GATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGG AGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATC ACCACCACCACTGA |
| 143 | 2630_G10 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTCGGGAGGTTCAAATATACTCTGACTGGGGTCCG CTGTATATATAACAACGAGTTCCTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA |

| | | |
|-----|---|--|
| | | TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 144 | 2630_H03 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCSCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCSATATTACCGCATCACTTA CGGACGTGAAGTRCAGAAATACTCTGACTGGGGCCCG CTGTACATCTACCAAGAGTTCAGTGTGCCTGGGAGCR AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAAMCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 145 | 2631_B04 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GTACCTGCCGTTACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGCAGGCACGTACATTTGTA CTGGAGTTCGGTCCG ATGTATATCTACAACGAGTTCAGTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 146 | 2631_E03 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTAGGGATGTCCACATGTA CTGACTGACTGGGGTCCG ATGTACATATACCAAGAGTTCAGTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |

| | | |
|-----|---|---|
| 147 | 2631_G01 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTAGGCATGTTTCAGATATACTCGGACTGGGGTCCG CTGTACATCTACAATGAGTTCCTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 148 | 2631_G03 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTACTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGAAGGTATGTTTCAGCTATACTCTGACTGGGGTCCG ATGTACATCTACACGGAGTTCCTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 149 | 2631_H09 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGACGGCAAGTGCAAGTGTTCAGACTTGGGTCCG CTGTACATATAACAACGAGTTCCTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 150 | 2632_G01 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTAGACAGGTGCAGATCTACTCTGACTGGGGACCG |

| | | |
|-----|---|---|
| | | CTGTACATCTACAATGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCA AGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGT TGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTG GAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTA TTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCAT CACCACCACCACTGA |
| 151 | 4079_A04 (последовательность нуклеиновой кислоты) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAT GCACCTGCCGTACAGTGCGATATTACCGCATCACTTA CGGTAGGCAGGTACAGATGTA CTCTGACTGGGGTCCA CTTTACATCTACGCCGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAA GTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTT GATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGG AGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAAT TACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATC ACCACCACCACTGA |
| 152 | Линкер | PSTPPTPSPSTPPTSPS |
| 153 | Линкер | GSGSGSGSGSGS |
| 154 | Линкер | GGSGSGSGSGS |
| 155 | Линкер | GGSGSGSGSGSGS |
| 156 | Линкер | GSEGSEGSEGSE |
| 157 | Линкер | GGSEGGSE |
| 158 | Линкер | GSGSGSGS |
| 159 | Линкер | GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS |
| 160 | Линкер | GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS |
| 161 | Линкер | GGGSGGGSGGGSG |
| 162 | Линкер | GPGPGPG |
| 163 | Линкер | GPGPGPGPG |
| 164 | Линкер | PAPAPA |
| 165 | Линкер | PAPAPAPAPA |
| 166 | Линкер | PAPAPAPAPAPAPA |

| | | |
|-----|--|--|
| 167 | PCSK9 ¹⁰ Fn3 домен | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEGYGYRITYG ETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYTITVYAVEF DFPGAGYYHRPISINYRT |
| 168 | Тандемный аднектин PCSK9-ПКЕ2 без HIS- метки 5190_E01 (ATI-1676) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEGYGYRITYG ETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYTITVYAVEF DFPGAGYYHRPISINYRTEPSTPPTPSPSTPPTPSPSGVSDV PRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGREVQKY SDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVT GSGESPASSKPISINYRTP |
| 169 | Тандемный аднектин PCSK9-ПКЕ2 с HIS- меткой 4472_C06 (ATI-1574) | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEGYGYRITYG ETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYTITVYAVEF DFPGAGYYHRPISINYRTEPSTPPTPSPSTPPTPSPSGVSDV PRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGREVQKY SDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVT GSGESPASSKPISINYRTEHHHHHH |
| 170 | Консенсусная последовательность петли CD | G-X ₁ -X ₂ -V-X ₃ -X ₄ -X ₅ -S-X ₆ -X ₇ -G-X ₈ -X ₉ -Y-X ₁₀ -X ₁₁ -X ₁₂ -E |
| 171 | 3852_F10 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAC GCTCCGGCTGTTGACGGTCGATATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTC ACTGTGCCTGGTTCTAAATCTACAGCTACCATCAGCGG CCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATG CTGTCACCTCCGTACGAATTCATTTCCCGTACACTCAT TACTCTTCTAAACCAATTTCCATTAATTACCGCACAGA AATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC TGA |
| 172 | Последовательность нуклеиновой кислоты тандемного аднектина PCSK9-ПКЕ2 5190_E01 (ATI-1676) | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGG TTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGAC GCTCCGGCTGAAGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTA CGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTC ACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGG CCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATG |

| | | |
|-----|--|--|
| | | CTGTCGAATTCGACTTCCCCGGCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGGACCGAACCGAGCA CACCTCCGACCCCGAGTCCGTCAACACCACCGACACC GTCACCGAGCGGAGTTTCTGACGTCCCGCGCGACCTG GAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCA GCTGGGATGCACCTGCCGTACAGTGCGATATTACCG CATCACTTACGGCAGGGAGGTTTCAGAAGTACTCGGAC TTGGGTCCGTTGTACATCTACCAAGAGTTCACTGTGCC TGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTAAA CCTGGCGTTGATTATAACCATCACTGTGTATGCTGTCAC TGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATT TCCATTAATTACCGCACACCGTGA |
| 173 | Линкер | PSPEPPTPEP |
| 174 | Линкер | PSPEPPTPEPPSPEPPTPEP |
| 175 | Линкер | PSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEP |
| 176 | Линкер | PSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEP |
| 177 | Линкер | EEEEDE |
| 178 | Линкер | EEEEDEEEEEDE |
| 179 | Линкер | EEEEDEEEEEDEEEEEDEEEEEDE |
| 180 | Линкер | EEEEDEEEEEDEEEEEDEEEEEDEEEEEDEEEEEDE |
| 181 | Линкер | RGGEEKKKEKEKEEQEERETKTP |
| 182 | Иллюстративное применение линкера | NYRTPGPSPEPPTPEP |
| 183 | Иллюстративное применение линкера | PSPEPPTPEPGVSDV |
| 184 | 2270_C01, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | <u>EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGWQVQMYSDW</u> <u>GPLYIYKEFTVPGSKSTATISGLKPGVDY</u> TITVYAVTGSG ESPASSKPISINYRTP |

| | | |
|-----|--|--|
| 185 | 2629_A09, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRHVQIYSDLG</u> <u>PLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGES</u> PASSKPISINYRTP |
| 186 | 2629_A11, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRHVHIYSDWG</u> <u>PMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRTP |
| 187 | 2629_C10, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQKYSVLG</u> <u>PLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGES</u> PASSKPISINYRTP |
| 188 | 2629_D09, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQMYSDLG</u> <u>PLYVYSEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRTP |
| 189 | 2629_E05, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQKFSDWG</u> <u>PLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGES</u> PASSKPISINYRTP |
| 190 | 2629_E06, сердцевинная последовательность | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQKYSDLG</u> <u>PLYIYQEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRTP |

| | | |
|-----|--|---|
| | (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | |
| 191 | 2629_F04, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVHQYSDW</u> <u>GPMYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG</u> ESPASSKPISINYRTP |
| 192 | 2629_H01, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVXYYRITY <u>GREVHKNSDW</u> <u>GTLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVXAVTGSG</u> EXPASSKPISINYRTP |
| 193 | 2629_H06, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQKYSDLG</u> <u>PLYIYAEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRTP |
| 194 | 2629_H07, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVHLYSDW</u> <u>GPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG</u> ESPASSKPISINYRTP |
| 195 | 2630_A02, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRHVQMYSDLG</u> <u>PLYIFSEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGES</u> PASSKPISINYRTP |

| | | |
|-----|--|--|
| 196 | 2630_A11, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVHMYSDFG</u> <u>PMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRTP |
| 197 | 2630_D02, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQKYSDW</u> <u>GPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG</u> ESPASSKPISINYRTP |
| 198 | 2630_D10, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQMYSDLG</u> <u>PLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRTP |
| 199 | 2630_F04, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQMYSDLG</u> <u>PLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVGYTITVYAVTGSGES</u> PASSKPISINYRTP |
| 200 | 2630_G03, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRHVQIYSDLG</u> <u>PLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRTP |
| 201 | 2630_G10, сердцевинная последовательность | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GREVQIYSDWG</u> <u>PLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE</u> SPASSKPISINYRTP |

| | | |
|-----|--|---|
| | (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | |
| 202 | 2630_H03, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATXTSLLISWDAPAVTVXYRITY <u>GREVQKYS</u> DW <u>GPLYIQE</u> FTEVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG ESPASSKPISINYRTP |
| 203 | 2631_B04, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDVPAVTVRYRITY <u>GRHVHLYSE</u> FG <u>PMYIYNE</u> FTEVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE SPASSKPISINYRTP |
| 204 | 2631_E03, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRDVHMY</u> SDW <u>GPMYIQE</u> FTEVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG ESPASSKPISINYRTP |
| 205 | 2631_G01, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRHVQIY</u> SDWG <u>PLYIYNE</u> FTEVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSGE SPASSKPISINYRTP |
| 206 | 2631_G03, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRYVQLY</u> SDW <u>GPMYIYTE</u> FTEVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTGSG ESPASSKPISINYRTP |

| | | |
|-----|--|---|
| 207 | 2631_H09, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRQVQV</u> FSDLG <u>PLYIYNE</u> FTVPGSKSTATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGE SPASSKPISINYRTP |
| 208 | 2632_G01, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRQVQIY</u> SDWG <u>PLYIYNE</u> FTVPGSKSTATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSGE SPASSKPISINYRTP |
| 209 | 4079_A04, сердцевинная последовательность (аминокислотная последовательность) с С-концевым пролином | EVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GRQVQMY</u> SDW <u>GPLYIYA</u> EFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTTITVYAVTGSG ESPASSKPISINYRTP |
| 210 | С-концевая хвостовая последовательность | EIEPKSS |
| 211 | С-концевая хвостовая последовательность | EIDKPC |
| 212 | С-концевая хвостовая последовательность | EIDKP |
| 213 | С-концевая хвостовая последовательность | EIDKPS |

| | | |
|-----|---|---------------|
| 214 | С-концевая хвостовая последовательность | EIDKPSQLE |
| 215 | С-концевая хвостовая последовательность | EIEDEDEDEDED |
| 216 | С-концевая хвостовая последовательность | EGSGS |
| 217 | С-концевая хвостовая последовательность | EIDKPCQLE |
| 218 | С-концевая хвостовая последовательность | EIDKPSQHNNNNN |
| 219 | С-концевая хвостовая последовательность | GSGCHNNNNN |
| 220 | С-концевая хвостовая последовательность | EGSGCHNNNNN |
| 221 | С-концевая хвостовая последовательность | PIDK |
| 222 | С-концевая хвостовая последовательность | PIEK |
| 223 | С-концевая хвостовая последовательность | PIDKP |

| | | |
|-----|---|---------|
| 224 | С-концевая хвостовая последовательность | PIEKР |
| 225 | С-концевая хвостовая последовательность | PIDKPS |
| 226 | С-концевая хвостовая последовательность | PIEKPS |
| 227 | С-концевая хвостовая последовательность | PIDKPC |
| 228 | С-концевая хвостовая последовательность | PIEKPC |
| 229 | С-концевая хвостовая последовательность | PIDKPSQ |
| 230 | С-концевая хвостовая последовательность | PIEKPSQ |
| 231 | С-концевая хвостовая последовательность | PIDKPCQ |
| 232 | С-концевая хвостовая последовательность | PIEKPCQ |
| 233 | С-концевая хвостовая последовательность | РНННННН |

| | | |
|-----|--|---|
| 234 | С-концевая хвостовая последовательность | PCNNNNNN |
| 235 | 2270_C01 без HIS-метки и N-концевого метионина и с С-концевым пролином | ASTSGVPRDLEVVAAT <u>PT</u> SLISWDAPAVTVRYRITYG <u>WQVQMYSDWGPLYIYKEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDY TITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEGDKPSQP |
| 236 | 2629_A09 без HIS-метки и N-концевого метионина и с С-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAAT <u>PT</u> SLISWDAPAVTVRYRITYG <u>R</u> <u>HVQIYSDLGPLYIYTEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYTITV YAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 237 | 2629_A11 без HIS-метки и N-концевого метионина и с С-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAAT <u>PT</u> SLISWDAPAVTVRYRITYG <u>R</u> <u>HVHIYSDWGPMYIYTEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYTIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 238 | 2629_C10 без HIS-метки и N-концевого метионина и с С-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAAT <u>PT</u> SLISWDAPAVTVRYRITYG <u>R</u> <u>EVQKYSVLGPLYIYTEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYTIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 239 | 2629_D09 без HIS-метки и N-концевого метионина и с С-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAAT <u>PT</u> SLISWDAPAVTVRYRITYG <u>R</u> <u>EVQMYSDLGPLYVYSEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYTIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 240 | 2629_E05 без HIS-метки и N-концевого метионина и с С-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAAT <u>PT</u> SLISWDAPAVTVRYRITYG <u>R</u> <u>EVQKFSDWGPLYIYTEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYTIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 241 | 2629_E06 без HIS-метки и N-концевого метионина и с С-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAAT <u>PT</u> SLISWDAPAVTVRYRITYG <u>R</u> <u>EVQKYSDLGPLYIYQEF</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYTIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |

| | | |
|-----|--|---|
| 242 | 2629_F04 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGR <u>EVHQYSDWGP MYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 243 | 2629_H01 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVXYRITYGR <u>EVHKNSDWGTL YIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTIT</u> VXAVTGSGEXPASSKPISINYRTEIDKXSQP |
| 244 | 2629_H06 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGR <u>EVQKYSDLGPLYIYAEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTIT</u> VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 245 | 2629_H07 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGR <u>EVHLYSDWGP MYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTIT</u> VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 246 | 2630_A02 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGR <u>HVQMYSDLGPLYIFSEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTIT</u> VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 247 | 2630_A11 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGR <u>EVHMYSDFGP MYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTIT</u> VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 248 | 2630_D02 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGR <u>EVQKYSDWGP LYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTIT</u> VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 249 | 2630_D10 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGR <u>EVQMYSDLGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTIT</u> VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |

| | | |
|-----|--|--|
| 250 | 2630_F04 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GR</u> <u>EVQMYSDLGPLYIYTEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVGYTIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 251 | 2630_G03 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GR</u> <u>HVQIYSDLGPLYIYNEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYITIT YAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 252 | 2630_G10 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GR</u> <u>EVQIYSDWGPLYIYNEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYITIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 253 | 2630_H03 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATXTSLLISWDAPAVTVXYRITY <u>GR</u> <u>EVQKYSDWGPLYIYQEFT</u> VPGSXSTATISGLKPGVDYITIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKXSQP |
| 254 | 2631_B04 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDVPAVTVRYRITY <u>GR</u> <u>HVHLYSEFGPMYIYNEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYITIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 255 | 2631_E03 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GR</u> <u>DVHMYSDWGPMYIYQEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYITI TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 256 | 2631_G01 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GR</u> <u>HVQIYSDWGPLYIYNEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYITIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 257 | 2631_G03 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITY <u>GR</u> <u>YVQLYSDWGPMYIYTEFT</u> VPGSKSTATISGLKPGVDYITIT VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |

| | | |
|-----|--|--|
| 258 | 2631_H09 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGR <u>QVQVFDLGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTIT</u> VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 259 | 2632_G01 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGR <u>QVQIYSDWGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTIT</u> VYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 260 | 4079_A04 без HIS-метки и N-концевого метионина и с C-концевым пролином | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGR <u>QVQMYSDWGPLYIYAEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTI</u> TVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQP |
| 261 | Тандемный аднектин PCSK9-ПКЕ2 без HIS-метки и N-концевого метионина 5190_E01 (ATI-1676) | GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEGYGYRITYGE TGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYTITVYAVEFD FPGAGYYHRPISINYRTEPSTPPTPSPSTPPTPSPSGVSDVP RDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYRITYGREVQKYS DLGPLYIYQEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYTITVYAVTG SGESPASSKPISINYRTP |
| 262 | Иллюстративный линкер | (PSPEPPTPEP) _n n=1-10 |
| 263 | Иллюстративный линкер | (EEEEDE) _n E n=1-10 |

Эквиваленты

Специалисты в настоящей области поймут, или смогут установить при помощи постановки всего-лишь стандартного эксперимента, многие эквиваленты описанных в настоящем документе конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения. Подразумевают, что такие эквиваленты охватываются приведенной далее формулой изобретения.

SEQUENCE LISTING

<110> BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY

<120> NOVEL SERUM ALBUMIN-BINDING FIBRONECTIN TYPE III DOMAINS

<130> MXI-536PC

<140> PCT/US2015/021535

<141> 2015-03-19

<150> US 61/968,181

<151> 2014-03-20

<160> 266

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 94

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Wild-type human 10Fn3 domain

<400> 1

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

Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr
20 25 30

Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe
35 40 45

Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro
50 55 60

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

Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 2

<211> 168

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> misc_feature

<223> Wild-type human 10Fn3 domain w/loop sequences generically defined

Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
115 120 125

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Xaa Xaa Xaa
130 135 140

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
145 150 155 160

Xaa Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
165

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: N-terminal leader

<400> 3

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu
1 5 10

<210> 4
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: N-terminal leader

<400> 4

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu
1 5

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: N-terminal leader

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid and may or may not
be present; If one is present, Xaa is Met or Gly; if both are
present, then Xaa Xaa is Met-Gly

<400> 5

Xaa Xaa Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu
1 5

<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: N-terminal leader

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid and may or may not be present; If one is present, Xaa is Met or Gly; if both are present, then Xaa Xaa is Met-Gly

<400> 6

Xaa Xaa Asp Val Pro Arg Asp Leu
1 5

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: N-terminal leader

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid and may or may not be present; If one is present, Xaa is Met or Gly; if both are present, then Xaa Xaa is Met-Gly

<400> 7

Xaa Xaa Val Pro Arg Asp Leu
1 5

<210> 8
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: N-terminal leader

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid and may or may not be present; If one is present, Xaa is Met or Gly; if both are present, then Xaa Xaa is Met-Gly

<400> 8

Xaa Xaa Pro Arg Asp Leu
1 5

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: N-terminal leader

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid and may or may not be present; If one is present, Xaa is Met or Gly; if both are present, then Xaa Xaa is Met-Gly

<400> 9

Xaa Xaa Arg Asp Leu
1 5

<210> 10

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: N-terminal leader

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid and may or may not be present; If one is present, Xaa is Met or Gly; if both are present, then Xaa Xaa is Met-Gly

<400> 10

Xaa Xaa Asp Leu
1

<210> 11

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: N-terminal leader

<400> 11

Met Ala Ser Thr Ser Gly
1 5

<210> 12
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 12

Glu Ile Glu Lys
1

<210> 13
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 13

Glu Gly Ser Gly Cys
1 5

<210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 14

Glu Ile Glu Lys Pro Cys Gln
1 5

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 15

Glu Ile Glu Lys Pro Ser Gln
1 5

<210> 16
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 16

Glu Ile Glu Lys Pro
1 5

<210> 17

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 17

Glu Ile Glu Lys Pro Ser
1 5

<210> 18

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 18

Glu Ile Glu Lys Pro Cys
1 5

<210> 19

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 19

Glu Ile Asp Lys
1

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 20

Glu Ile Asp Lys Pro Cys Gln
1 5

<210> 21

<211> 7

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 21

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
1 5

<210> 22
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 6X His tail

<400> 22

His His His His His His
1 5

<210> 23
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2270_C01

<400> 23

Met Ala Ser Thr Ser Gly Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala
1 5 10 15

Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val
20 25 30

Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Trp Gln Val Gln Met Tyr Ser Asp
35 40 45

Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Lys Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys
50 55 60

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

Thr Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys
85 90 95

Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Gly Asp Lys Pro Ser Gln His
100 105 110

His His His His His
115

<210> 24
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2629_A09

<400> 24

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val Gln Ile Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 25
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2629_A11

<400> 25

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val His Ile Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 26
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2629_C10

<400> 26

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Val Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 27
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2629_D09

<400> 27

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 28
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2629_E05

<400> 28

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Phe Ser Asp Trp
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 29

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2629_E06 (also referred to as ATI-1490)

<400> 29

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 30
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2629_F04

<400> 30

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Gln Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 31
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2629_H01

<220>
<221> misc_feature
<222> (32)..(32)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (82)..(82)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (90)..(90)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (108)..(108)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 31

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Xaa
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Lys Asn Ser Asp Trp
35 40 45

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

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

Val Xaa Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Xaa Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Xaa Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 32

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2629_H06

<400> 32

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Ala Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser

50

55

60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 33
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2629_H07

<400> 33

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Leu Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 34
<211> 116
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2630_A02

<400> 34

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Thr Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 35

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2630_A11

<400> 35

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Met Tyr Ser Asp Phe
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 36
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2630_D02

<400> 36

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

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

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 37
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2630_D10

<400> 37

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 38

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2630_F04

<400> 38

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Gly Tyr Thr Ile Thr

<400> 40

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Ile Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 41

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2630_H03

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (63)..(63)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (108)..(108)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 41

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Xaa Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Xaa
20 25 30

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

Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Xaa Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Xaa Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 42

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2631_B04

<400> 42

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Val Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val His Leu Tyr Ser Glu Phe
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 43
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2631_E03

<400> 43

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Asp Val His Met Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 44
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2631_G01

<400> 44

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val Gln Ile Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 45

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2631_G03

<400> 45

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Tyr Val Gln Leu Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 46
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2631_H09

<400> 46

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val Gln Val Phe Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 47
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 2632_G01

<400> 47

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

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

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 48

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PKE2 Adnectin 4079_A04

<400> 48

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val Gln Met Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His
100 105 110

His His His His
115

<210> 49
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2270_C01 w/o his tag

<400> 49

Met Ala Ser Thr Ser Gly Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala
1 5 10 15

Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val
20 25 30

Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Trp Gln Val Gln Met Tyr Ser Asp
35 40 45

Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Lys Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys
50 55 60

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

Thr Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys
85 90 95

Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Gly Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 50
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_A09 w/o his tag

<400> 50

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val Gln Ile Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 51
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_All w/o his tag

<400> 51

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val His Ile Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 52
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_C10 w/o his tag

<400> 52

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Val Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 53

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_D09 w/o his tag

<400> 53

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 54
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_E05 w/o his tag

<400> 54

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Phe Ser Asp Trp
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 55
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_E06 w/o his tag

<400> 55

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 56

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_F04 w/o his tag

<400> 56

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Gln Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 57

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_H01 w/o his tag

<220>
<221> misc_feature
<222> (32)..(32)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (82)..(82)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (90)..(90)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (108)..(108)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 57

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Xaa
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Lys Asn Ser Asp Trp
35 40 45

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

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

Val Xaa Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Xaa Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Xaa Ser Gln
100 105 110

<210> 58
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_H06 w/o his tag

<400> 58

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 59

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_H07 w/o his tag

<400> 59

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Leu Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 60

<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_A02 w/o his tag

<400> 60

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Thr Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 61
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_A11 w/o his tag

<400> 61

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Met Tyr Ser Asp Phe
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr

65

70

75

80

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 62

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_D02 w/o his tag

<400> 62

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

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

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 63

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_D10 w/o his tag

<400> 63

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg

20

25

30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 64
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_F04 w/o his tag

<400> 64

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Gly Tyr Thr Ile Thr
65 70 75 80

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 65
<211> 110
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_G03 w/o his tag

<400> 65

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val Gln Ile Tyr Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 66

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_G10 w/o his tag

<400> 66

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Ile Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 67
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_H03 w/o his tag

<220>
<221> misc_feature
<222> (17)..(17)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (32)..(32)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (63)..(63)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (108)..(108)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 67

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Xaa Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Xaa
20 25 30

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

Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Xaa Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Xaa Ser Gln
100 105 110

<210> 68
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_B04 w/o his tag
<400> 68

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Val Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val His Leu Tyr Ser Glu Phe
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 69
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_E03 w/o his tag
<400> 69

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Asp Val His Met Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 70

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_G01 w/o his tag

<400> 70

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val Gln Ile Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 71

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_G03 w/o his tag

<400> 71

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Tyr Val Gln Leu Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser
50 55 60

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 72

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_H09 w/o his tag

<400> 72

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val Gln Val Phe Ser Asp Leu
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 73
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2632_G01 w/o his tag

<400> 73

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

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

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 74
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 4079_A04 w/o his tag

<400> 74

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val Gln Met Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln
100 105 110

<210> 75
<211> 93
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2270_C01 core

<400> 75

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Trp Gln Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Lys Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 76
<211> 93
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_A09 core

<400> 76

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

Gln Ile Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 77

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_A11 core

<400> 77

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

His Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 78

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_C10 core

<400> 78

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Tyr Ser Val Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 79
<211> 93
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_D09 core

<400> 79

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Val Tyr Ser Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 80
<211> 93
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_E05 core

<400> 80

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Phe Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 81

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_E06 core

<400> 81

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 82

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_F04 core

<400> 82

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

His Gln Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 83

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_H01 core

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(22)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (72)..(72)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (80)..(80)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 83

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Xaa Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

His Lys Asn Ser Asp Trp Gly Thr Leu Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Xaa Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Xaa
65 70 75 80

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 84

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_H06 core

<400> 84

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Ala Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 85

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_H07 core

<400> 85

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

His Leu Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 86

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_A02 core

<400> 86

Glu Val Val Ala Thr Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Phe Ser Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 87

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_A11 core

<400> 87

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

His Met Tyr Ser Asp Phe Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 88

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_D02 core

<400> 88

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 89

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_D10 core

<400> 89

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 90

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_F04 core

<400> 90

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 91

<211> 93

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_G03 core

<400> 91

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

Gln Ile Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 92
<211> 93
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_G10 core

<400> 92

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 93
<211> 93
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_H03 core

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (53)..(53)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 93

Glu Val Val Ala Ala Thr Xaa Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Xaa Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Xaa Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 94
<211> 93
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_B04 core

<400> 94

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Val
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

His Leu Tyr Ser Glu Phe Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 95

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_E03 core

<400> 95

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Asp Val
20 25 30

His Met Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 96

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_G01 core

<400> 96

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

Gln Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 97

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_G03 core

<400> 97

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Tyr Val
20 25 30

Gln Leu Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 98

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_H09 core

<400> 98

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val
20 25 30

Gln Val Phe Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 99

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2632_G01 core

<400> 99

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val
20 25 30

Gln Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 100
<211> 93
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 4079_A04 core

<400> 100

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Ala Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90

<210> 101
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_A09 CD loop

<400> 101

Gly Arg His Val Gln Ile Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Thr Glu

<210> 102
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_A11 CD loop

<400> 102

Gly Arg His Val His Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Thr Glu

<210> 103
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_C10 CD loop

<400> 103

Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Val Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Thr Glu

<210> 104
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_D09 CD loop

<400> 104

Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Val Tyr
1 5 10 15

Ser Glu

<210> 105
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_E05 CD loop

<400> 105

Gly Arg Glu Val Gln Lys Phe Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Thr Glu

<210> 106
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_E06 CD loop

<400> 106

Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Gln Glu

<210> 107

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_F04 CD loop

<400> 107

Gly Arg Glu Val His Gln Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Asn Glu

<210> 108

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_H01 CD loop

<400> 108

Gly Arg Glu Val His Lys Asn Ser Asp Trp Gly Thr Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Thr Glu

<210> 109

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_H06 CD loop

<400> 109

Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Ala Glu

<210> 110
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_H07 CD loop

<400> 110

Gly Arg Glu Val His Leu Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Thr Glu

<210> 111
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_A02 CD loop

<400> 111

Gly Arg His Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Phe
1 5 10 15

Ser Glu

<210> 112
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_A11 CD loop

<400> 112

Gly Arg Glu Val His Met Tyr Ser Asp Phe Gly Pro Met Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Thr Glu

<210> 113
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_D02 CD loop

<400> 113

Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Asn Glu

<210> 114

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_D10 CD loop

<400> 114

Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Asn Glu

<210> 115

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_F04 CD loop

<400> 115

Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Thr Glu

<210> 116

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_G03 CD loop

<400> 116

Gly Arg His Val Gln Ile Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Asn Glu

<210> 117
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_G10 CD loop

<400> 117

Gly Arg Glu Val Gln Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Asn Glu

<210> 118
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_H03 CD loop

<400> 118

Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Gln Glu

<210> 119
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_B04 CD loop

<400> 119

Gly Arg His Val His Leu Tyr Ser Glu Phe Gly Pro Met Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Asn Glu

<210> 120
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_E03 CD loop

<400> 120

Gly Arg Asp Val His Met Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Gln Glu

<210> 121

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_G01 CD loop

<400> 121

Gly Arg His Val Gln Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Asn Glu

<210> 122

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_G03 CD loop

<400> 122

Gly Arg Tyr Val Gln Leu Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Thr Glu

<210> 123

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_H09 CD loop

<400> 123

Gly Arg Gln Val Gln Val Phe Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Asn Glu

<210> 124
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2632_G01 CD loop

<400> 124

Gly Arg Gln Val Gln Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Asn Glu

<210> 125
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 4079_A04 CD loop

<400> 125

Gly Arg Gln Val Gln Met Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr
1 5 10 15

Ala Glu

<210> 126
<211> 354
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2270_C01

<400> 126

atggctagca ctagtggcgt gccgcgcgac ttggaagtgg ttgccgcgac cccgacgtct 60
ctgcttatta gctgggatgc acctgccgtc acagtgagat attatcgcat tacatatggt 120
tggcaggttc agatgtactc tgactgggggt ccgctgtaca tctacaaaga gttcacggta 180
cctgggagca agtccacagc taccatcagc ggtctcaaac ctggagttga ttacaccatt 240
acggtatacg cagtcaccgg ctctggagag agccccgcaa gcagcaagcc aatttccatt 300
aattatcgga ccgaaggcga caaacatcc cagcaccatc accaccacca ctga 354

<210> 127
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_A09

<400> 127
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggacgg 120
catgttcaga tctattctga cttaggcccc ctgtacatct acacagagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcgttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tcaactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 128
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_A11

<400> 128
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggtaga 120
cacgttcata tctactcaga ctgggggtccg atgtacatct acacagagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcgttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tcaactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 129
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_C10

<400> 129
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacgggaga 120
gaggttcaga aataactctgt cttgggtcca ctgtacatat acacggagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcgttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tcaactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 130
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_D09

<400> 130

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacgggagg 120
gaggttcaga tgtactctga cttgggtcca ttgtacgtat acagcgagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcggttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgaaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 131

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_E05

<400> 131

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacgggcgg 120
gaggtacaga agttctcgga ctggggctcg ctgtacatct acacagagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcggttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgaaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 132

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_E06

<400> 132

atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggcagg 120
gaggttcaga agtactcgga cttgggtccg ttgtacatct accaagagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcggttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgaaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 133

<211> 351

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_F04

<400> 133
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggtagg 120
gaggttcatc aatactctga ctgggggtccg atgtacatct acaacgagtt cactgtgctt 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaactct gcggttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 134
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_H01

<400> 134
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcratatt accgcatcac ttacggtcgg 120
gaggttcata agaactcaga ctgggggtacg ctgtacatct acacagagtt cactgtgctt 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaactct gcggttgatta taccatcact 240
gtgtrtgctg tctactggctc tggagagarc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa amcatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 135
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_H06

<400> 135
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggacgg 120
gaggttcaga agtattcaga cttgggtcca ctgtacatct acgcagagtt cactgtgctt 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaactct gcggttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 136
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_H07

<400> 136
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtggttg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcgatatt accgcatcac ttacggggcgg 120
gaggtccacc tgtactccga ctggggggccg atgtacatct acacagagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcgttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tcaactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 137
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_A02

<400> 137
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtggttg ctaccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcgatatt accgcatcac ttacggtagg 120
cacgttcaaa tgtactctga ccttgggtccg ttgtacatct tcagtgagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcgttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tcaactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 138
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_A11

<400> 138
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtggttg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcgatatt accgcatcac ttacgggacgg 120
gaggttcata tgtactctga cttcgggtccg atgtacatat acacagagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcgttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tcaactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 139
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_D02

<400> 139
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggtaga 120
gaagttcaga aatactctga ctggggcccg ctctacatct acaatgagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcggttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgaaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 140
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_D10

<400> 140
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggtcgg 120
gaggttcaga tgtactcgga cttgggtccg ctctacatct acaacgagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcggttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgaaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 141
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_F04

<400> 141
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggtaga 120
gaggtccaga tgtactcaga cttggggccc ctgtacatct atacagagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcggttggtta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300

taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 142
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_G03

<400> 142
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtggttg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggacgg 120
catgttcaga tctactccga cttgggtcct ctgtatatct acaatgagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcggttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tcaactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 143
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_G10

<400> 143
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtggttg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggtcgg 120
gaggttcaaa tatactctga ctggggctcg ctgtatatat acaacgagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcggttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tcaactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 144
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_H03

<400> 144
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtggttg ctgccaccsc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcsatatt accgcatcac ttacggacgt 120
gaagtrcaga aatactctga ctggggcccc ctgtacatct accaagagtt cactgtgcct 180
gggagcragt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcggttgatta taccatcact 240

gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa amcatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 145
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_B04

<400> 145
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgtacc tgccgttaca gtgcatatt accgcatcac ttacggcagg 120
cacgtacatt tgtactcgga gttcgggtccg atgtatatct acaacgagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcggttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 146
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_E03

<400> 146
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggtagg 120
gatgtccaca tgtactctga ctgggggtccg atgtacatat accaagagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcggttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 147
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_G01

<400> 147
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggtagg 120
catgttcaga tatactcgga ctgggggtccg ctgtacatct acaatgagtt cactgtgcct 180

gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaactg gcgttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 148
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_G03

<400> 148
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagccta 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcgatatt accgcatcac ttacggaagg 120
tatgttcagc tatactctga ctgggggtccg atgtacatct acacggagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaactg gcgttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 149
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_H09

<400> 149
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcgatatt accgcatcac ttacggacgg 120
caagtgcaag tgttctcaga cttgggtccg ctgtacatat acaacgagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaactg gcgttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tctactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 150
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2632_G01

<400> 150
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtgggtg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcgatatt accgcatcac ttacggtaga 120

caggtgcaga tctactctga ctggggaccg ctgtacatct acaatgagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcgttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tcaactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 151
<211> 351
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 4079_A04

<400> 151
atgggagttt ctgatgtgcc gcgcgacctg gaagtggttg ctgccacccc caccagcctg 60
ctgatcagct gggatgcacc tgccgtcaca gtgcatatt accgcatcac ttacggtagg 120
caggtacaga tgtactctga ctgggggtcca ctttacatct acgccgagtt cactgtgcct 180
gggagcaagt ccacagctac catcagcggc cttaaacctg gcgttgatta taccatcact 240
gtgtatgctg tcaactggctc tggagagagc cccgcaagca gcaagccaat ttccattaat 300
taccgcacag aaattgacaa accatcccag caccatcacc accaccactg a 351

<210> 152
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 152

Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser
1 5 10 15

Pro Ser

<210> 153
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 153

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5 10

<210> 154
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 154

Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5 10

<210> 155
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 155

Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

<210> 156
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 156

Gly Ser Glu Gly Ser Glu Gly Ser Glu Gly Ser Glu Gly Ser Glu
1 5 10 15

<210> 157
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 157

Gly Gly Ser Glu Gly Gly Ser Glu
1 5

<210> 158
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 158

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5

<210> 159

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: Linker

<400> 159

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser
35

<210> 160

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: Linker

<400> 160

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 161

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: Linker

<400> 161

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

<210> 162

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 162

Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly
1 5

<210> 163
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 163

Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly
1 5 10

<210> 164
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 164

Pro Ala Pro Ala Pro Ala
1 5

<210> 165
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 165

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
1 5 10

<210> 166
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 166

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
1 5 10 15

Pro Ala

<210> 167
<211> 97
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PCSK9 10Fn3 domain

<400> 167

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Glu Gly Tyr Gly
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln
35 40 45

Glu Phe Thr Val Pro Val Ser Lys Gly Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu
50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Glu Phe Asp
65 70 75 80

Phe Pro Gly Ala Gly Tyr Tyr His Arg Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg
85 90 95

Thr

<210> 168
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: PCSK9-PKE2 tandem Adnectin w/o his tag 5190_E01
(ATI-1676)

<400> 168

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Glu Gly Tyr Gly
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln

35

40

45

Glu Phe Thr Val Pro Val Ser Lys Gly Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu
50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Glu Phe Asp
65 70 75 80

Phe Pro Gly Ala Gly Tyr Tyr His Arg Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg
85 90 95

Thr Glu Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr
100 105 110

Pro Ser Pro Ser Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val
115 120 125

Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val
130 135 140

Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr
145 150 155 160

Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly
165 170 175

Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr
180 185 190

Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
210 215

<210> 169

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PCSK9-PKE2 tandem Adnectin w/ his tag 4472_C06
(ATI-1574)

<400> 169

Met Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Glu Gly Tyr Gly
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln
35 40 45

Glu Phe Thr Val Pro Val Ser Lys Gly Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu
50 55 60

Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Glu Phe Asp
65 70 75 80

Phe Pro Gly Ala Gly Tyr Tyr His Arg Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg
85 90 95

Thr Glu Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr
100 105 110

Pro Ser Pro Ser Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val
115 120 125

Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val
130 135 140

Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr
145 150 155 160

Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly
165 170 175

Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr
180 185 190

Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser
195 200 205

Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu His His His His His
210 215 220

His
225

<210> 170
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: CD loop consensus

<220>

<221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa is R or W

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa is H, E, D, Y, or Q

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa is Q or H

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa is I, K, M, Q, L, or V

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa is Y, F, or N

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa is D, V, or E

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa is L, W, or F

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa is P or T

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa is L or M

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (15)..(15)
 <223> Xaa is I or V

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> Xaa is Y or F

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> Xaa is T, S, Q, N, or A

 <400> 170

Gly Xaa Xaa Val Xaa Xaa Xaa Ser Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa Glu

<210> 171
<211> 342
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 3852_F10

<400> 171

Ala Thr Gly Gly Gly Ala Gly Thr Thr Thr Cys Thr Gly Ala Thr Gly
1 5 10 15

Thr Gly Cys Cys Gly Cys Gly Cys Gly Ala Cys Cys Thr Gly Gly Ala
20 25 30

Ala Gly Thr Gly Gly Thr Thr Gly Cys Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys
35 40 45

Cys Cys Cys Ala Cys Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly Ala
50 55 60

Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Gly Cys Thr Cys Cys
65 70 75 80

Gly Gly Cys Thr Gly Thr Thr Gly Ala Cys Gly Gly Thr Cys Gly Ala
85 90 95

Thr Ala Thr Thr Ala Cys Cys Gly Cys Ala Thr Cys Ala Cys Thr Thr
100 105 110

Ala Cys Gly Gly Cys Gly Ala Ala Ala Cys Ala Gly Gly Ala Gly Gly
115 120 125

Cys Ala Ala Thr Ala Gly Cys Cys Cys Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly
130 135 140

Gly Ala Gly Thr Thr Cys Ala Cys Thr Gly Thr Gly Cys Cys Thr Gly
145 150 155 160

Gly Thr Thr Cys Thr Ala Ala Ala Thr Cys Thr Ala Cys Ala Gly Cys
165 170 175

Thr Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Thr Thr
180 185 190

Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Cys Gly Thr Thr Gly Ala Thr Thr

195

200

205

Ala Thr Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Thr Gly Thr Gly Thr Ala
210 215 220

Thr Gly Cys Thr Gly Thr Cys Ala Cys Thr Cys Cys Gly Thr Ala Cys
225 230 235 240

Gly Ala Ala Thr Thr Cys Cys Ala Thr Thr Thr Cys Cys Cys Gly Thr
245 250 255

Ala Cys Ala Cys Thr Cys Ala Thr Thr Ala Cys Thr Cys Thr Thr Cys
260 265 270

Thr Ala Ala Ala Cys Cys Ala Ala Thr Thr Thr Cys Cys Ala Thr Thr
275 280 285

Ala Ala Thr Thr Ala Cys Cys Gly Cys Ala Cys Ala Gly Ala Ala Ala
290 295 300

Thr Thr Gly Ala Cys Ala Ala Ala Cys Cys Ala Thr Cys Cys Cys Ala
305 310 315 320

Gly Cys Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Cys Ala Cys Cys Ala Cys
325 330 335

Cys Ala Cys Thr Gly Ala
340

<210> 172

<211> 660

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PCSK9-PKE2 tandem Adnectin nucleic acid sequence
5190_E01 (ATI-1676)

<400> 172

Ala Thr Gly Gly Gly Ala Gly Thr Thr Thr Cys Thr Gly Ala Thr Gly
1 5 10 15

Thr Gly Cys Cys Gly Cys Gly Cys Gly Ala Cys Cys Thr Gly Gly Ala
20 25 30

Ala Gly Thr Gly Gly Thr Thr Gly Cys Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys
35 40 45

Cys Cys Cys Ala Cys Cys Ala Gly Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly Ala
50 55 60

Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly Gly Gly Ala Cys Gly Cys Thr Cys Cys
 65 70 75 80

Gly Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Gly Gly Thr Ala Cys Gly Gly Thr
 85 90 95

Thr Ala Thr Thr Ala Cys Cys Gly Cys Ala Thr Cys Ala Cys Thr Thr
 100 105 110

Ala Cys Gly Gly Cys Gly Ala Ala Ala Cys Ala Gly Gly Ala Gly Gly
 115 120 125

Cys Ala Ala Thr Ala Gly Cys Cys Cys Thr Gly Thr Cys Cys Ala Gly
 130 135 140

Gly Ala Gly Thr Thr Cys Ala Cys Thr Gly Thr Gly Cys Cys Thr Gly
 145 150 155 160

Thr Thr Thr Cys Thr Ala Ala Ala Gly Gly Thr Ala Cys Ala Gly Cys
 165 170 175

Thr Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Thr Thr
 180 185 190

Ala Ala Ala Cys Cys Thr Gly Gly Cys Gly Thr Thr Gly Ala Thr Thr
 195 200 205

Ala Thr Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Thr Gly Thr Gly Thr Ala
 210 215 220

Thr Gly Cys Thr Gly Thr Cys Gly Ala Ala Thr Thr Cys Gly Ala Cys
 225 230 235 240

Thr Thr Cys Cys Cys Cys Gly Gly Cys Gly Cys Cys Gly Gly Thr Thr
 245 250 255

Ala Cys Thr Ala Cys Cys Ala Thr Cys Gly Thr Cys Cys Ala Ala Thr
 260 265 270

Thr Thr Cys Cys Ala Thr Thr Ala Ala Thr Thr Ala Cys Cys Gly Gly
 275 280 285

Ala Cys Cys Gly Ala Ala Cys Cys Gly Ala Gly Cys Ala Cys Ala Cys
 290 295 300

Cys Thr Cys Cys Gly Ala Cys Cys Cys Cys Gly Ala Gly Thr Cys Cys
 305 310 315 320

Gly Thr Cys Ala Ala Cys Ala Cys Cys Ala Cys Cys Gly Ala Cys Ala
 325 330 335

Cys Cys Gly Thr Cys Ala Cys Cys Gly Ala Gly Cys Gly Gly Ala Gly
 340 345 350

Thr Thr Thr Cys Thr Gly Ala Cys Gly Thr Cys Cys Cys Gly Cys Gly
 355 360 365

Cys Gly Ala Cys Cys Thr Gly Gly Ala Ala Gly Thr Gly Gly Thr Thr
 370 375 380

Gly Cys Thr Gly Cys Cys Ala Cys Cys Cys Cys Cys Ala Cys Cys Ala
 385 390 395 400

Gly Cys Cys Thr Gly Cys Thr Gly Ala Thr Cys Ala Gly Cys Thr Gly
 405 410 415

Gly Gly Ala Thr Gly Cys Ala Cys Cys Thr Gly Cys Cys Gly Thr Cys
 420 425 430

Ala Cys Ala Gly Thr Gly Cys Gly Ala Thr Ala Thr Thr Ala Cys Cys
 435 440 445

Gly Cys Ala Thr Cys Ala Cys Thr Thr Ala Cys Gly Gly Cys Ala Gly
 450 455 460

Gly Gly Ala Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Ala Ala Gly Thr Ala Cys
 465 470 475 480

Thr Cys Gly Gly Ala Cys Thr Thr Gly Gly Gly Thr Cys Cys Gly Thr
 485 490 495

Thr Gly Thr Ala Cys Ala Thr Cys Thr Ala Cys Cys Ala Ala Gly Ala
 500 505 510

Gly Thr Thr Cys Ala Cys Thr Gly Thr Gly Cys Cys Thr Gly Gly Gly
 515 520 525

Ala Gly Cys Ala Ala Gly Thr Cys Cys Ala Cys Ala Gly Cys Thr Ala
 530 535 540

Cys Cys Ala Thr Cys Ala Gly Cys Gly Gly Cys Cys Thr Thr Ala Ala
 545 550 555 560

Ala Cys Cys Thr Gly Gly Cys Gly Thr Thr Gly Ala Thr Thr Ala Thr
 565 570 575

Ala Cys Cys Ala Thr Cys Ala Cys Thr Gly Thr Gly Thr Ala Thr Gly
580 585 590

Cys Thr Gly Thr Cys Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Cys Thr Gly Gly
595 600 605

Ala Gly Ala Gly Ala Gly Cys Cys Cys Cys Gly Cys Ala Ala Gly Cys
610 615 620

Ala Gly Cys Ala Ala Gly Cys Cys Ala Ala Thr Thr Thr Cys Cys Ala
625 630 635 640

Thr Thr Ala Ala Thr Thr Ala Cys Cys Gly Cys Ala Cys Ala Cys Cys
645 650 655

Gly Thr Gly Ala
660

<210> 173
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 173

Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro
1 5 10

<210> 174
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 174

Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro
1 5 10 15

Thr Pro Glu Pro
20

<210> 175
<211> 30
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: Linker

<400> 175

Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro
1 5 10 15

Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro
20 25 30

<210> 176

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: Linker

<400> 176

Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro
1 5 10 15

Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser
20 25 30

Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro
35 40

<210> 177

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: Linker

<400> 177

Glu Glu Glu Glu Asp Glu
1 5

<210> 178

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: Linker

<400> 178

Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Asp Glu
1 5 10

<210> 179

<211> 21

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 179

Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Asp Glu
1 5 10 15

Glu Glu Glu Asp Glu
20

<210> 180
<211> 31
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 180

Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Asp Glu
1 5 10 15

Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Asp Glu
20 25 30

<210> 181
<211> 23
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Linker

<400> 181

Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu
1 5 10 15

Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro
20

<210> 182
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Exemplary use of linker

<400> 182

Asn Tyr Arg Thr Pro Gly Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro
1 5 10 15

<210> 183
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Exemplary use of linker

<400> 183

Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Gly Val Ser Asp Val
1 5 10 15

<210> 184
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2270_C01 core with C-terminal proline

<400> 184

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Trp Gln Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Lys Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 185
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_A09 core with C-terminal proline

<400> 185

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

Gln Ile Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 186

<211> 94

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_All core with C-terminal proline

<400> 186

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

His Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 187

<211> 94

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_C10 core with C-terminal proline

<400> 187

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Tyr Ser Val Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 188
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_D09 core with C-terminal proline

<400> 188

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Val Tyr Ser Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 189
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_E05 core with C-terminal proline

<400> 189

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Phe Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 190

<211> 94

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_E06 core with C-terminal proline

<400> 190

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 191

<211> 94

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_F04 core with C-terminal proline

<400> 191

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

His Gln Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 192
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_H01 core with C-terminal proline

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (72)..(72)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (80)..(80)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 192

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Xaa Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

His Lys Asn Ser Asp Trp Gly Thr Leu Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Xaa Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Xaa
65 70 75 80

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 193
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_H06 core with C-terminal proline

<400> 193

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Ala Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 194
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_H07 core with C-terminal proline

<400> 194

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

His Leu Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 195
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_A02 core with C-terminal proline
<400> 195

Glu Val Val Ala Thr Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Phe Ser Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 196
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_A11 core with C-terminal proline

<400> 196

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

His Met Tyr Ser Asp Phe Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 197

<211> 94

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_D02 core with C-terminal proline

<400> 197

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 198

<211> 94

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_D10 core with C-terminal proline

<400> 198

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 199

<211> 94

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_F04 core with C-terminal proline

<400> 199

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 200
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_G03 core with C-terminal proline

<400> 200

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

Gln Ile Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 201
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_G10 core with C-terminal proline

<400> 201

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 202
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_H03 core with C-terminal proline

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (53)..(53)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 202

Glu Val Val Ala Ala Thr Xaa Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Xaa Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val
20 25 30

Gln Lys Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Xaa Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 203
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_B04 core with C-terminal proline

<400> 203

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Val
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

His Leu Tyr Ser Glu Phe Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 204
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_E03 core with C-terminal proline

<400> 204

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Asp Val
20 25 30

His Met Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 205
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_G01 core with C-terminal proline

<400> 205

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val
20 25 30

Gln Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 206

<211> 94

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_G03 core with C-terminal proline

<400> 206

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Tyr Val
20 25 30

Gln Leu Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 207

<211> 94

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_H09 core with C-terminal proline

<400> 207

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val
20 25 30

Gln Val Phe Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 208
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2632_G01 core with C-terminal proline

<400> 208

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val
20 25 30

Gln Ile Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 209
<211> 94
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 4079_A04 core with C-terminal proline

<400> 209

Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala
1 5 10 15

Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val
20 25 30

Gln Met Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Ala Glu Phe Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

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

Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
85 90

<210> 210
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 210

Glu Ile Glu Pro Lys Ser Ser
1 5

<210> 211
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 211

Glu Ile Asp Lys Pro Cys
1 5

<210> 212
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 212

Glu Ile Asp Lys Pro
1 5

<210> 213
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 213

Glu Ile Asp Lys Pro Ser
1 5

<210> 214
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 214

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Leu Glu
1 5

<210> 215
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 215

Glu Ile Glu Asp Glu Asp Glu Asp Glu Asp
1 5 10

<210> 216
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 216

Glu Gly Ser Gly Ser
1 5

<210> 217

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 217

Glu Ile Asp Lys Pro Cys Gln Leu Glu
1 5

<210> 218

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 218

Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln His His His His His His
1 5 10

<210> 219

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 219

Gly Ser Gly Cys His His His His His His
1 5 10

<210> 220

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 220

Glu Gly Ser Gly Cys His His His His His His
1 5 10

<210> 221

<211> 4

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 221

Pro Ile Asp Lys
1

<210> 222
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 222

Pro Ile Glu Lys
1

<210> 223
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 223

Pro Ile Asp Lys Pro
1 5

<210> 224
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 224

Pro Ile Glu Lys Pro
1 5

<210> 225
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 225

Pro Ile Asp Lys Pro Ser
1 5

<210> 226
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 226

Pro Ile Glu Lys Pro Ser
1 5

<210> 227
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 227

Pro Ile Asp Lys Pro Cys
1 5

<210> 228
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 228

Pro Ile Glu Lys Pro Cys
1 5

<210> 229
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 229

Pro Ile Asp Lys Pro Ser Gln
1 5

<210> 230
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 230

Pro Ile Glu Lys Pro Ser Gln
1 5

<210> 231
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 231

Pro Ile Asp Lys Pro Cys Gln
1 5

<210> 232
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 232

Pro Ile Glu Lys Pro Cys Gln
1 5

<210> 233
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 233

Pro His His His His His His
1 5

<210> 234
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: C-terminal tail

<400> 234

Pro Cys His His His His His His
1 5

<210> 235
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2270_C01 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 235

Ala Ser Thr Ser Gly Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr
1 5 10 15

Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg
20 25 30

Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Trp Gln Val Gln Met Tyr Ser Asp Trp
35 40 45

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

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

Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro
85 90 95

Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Gly Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 236
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_A09 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 236

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val Gln Ile Tyr Ser Asp Leu Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 237

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_All w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 237

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val His Ile Tyr Ser Asp Trp Gly
35 40 45

Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
50 55 60

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 238

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_C10 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 238

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Val Leu Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 239

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_D09 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 239

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 240
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_E05 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 240

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Phe Ser Asp Trp Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 241
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2629_E06 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 241

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly

35

40

45

Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
50 55 60

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 242

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_F04 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 242

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Gln Tyr Ser Asp Trp Gly
35 40 45

Pro Met Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
50 55 60

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 243

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_H01 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(31)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (81)..(81)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (89)..(89)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (107)..(107)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 243

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Xaa Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Lys Asn Ser Asp Trp Gly
35 40 45

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

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

Xaa Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Xaa Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Xaa Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 244

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_H06 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 244

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 245

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2629_H07 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 245

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Leu Tyr Ser Asp Trp Gly
35 40 45

Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
50 55 60

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 246
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_A02 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 246

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Thr Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 247
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_All w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 247

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val His Met Tyr Ser Asp Phe Gly
35 40 45

Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
50 55 60

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 248

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_D02 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 248

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

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

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 249

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_D10 w/o his tag and N-terminal methionine and w/

C-terminal proline

<400> 249

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 250

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2630_F04 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 250

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Met Tyr Ser Asp Leu Gly
35 40 45

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

Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Gly Tyr Thr Ile Thr Val
65 70 75 80

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile

85

90

95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 251
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_G03 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 251

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val Gln Ile Tyr Ser Asp Leu Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 252
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_G10 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 252

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Ile Tyr Ser Asp Trp Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 253
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2630_H03 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(31)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (62)..(62)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>
<221> misc_feature
<222> (107)..(107)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 253

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Xaa
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Xaa Tyr
20 25 30

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

Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Xaa Ser Thr
50 55 60

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Xaa Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 254

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_B04 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 254

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Val Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val His Leu Tyr Ser Glu Phe Gly
35 40 45

Pro Met Tyr Ile Tyr Asn Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
50 55 60

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 255

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_E03 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 255

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Asp Val His Met Tyr Ser Asp Trp Gly
35 40 45

Pro Met Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
50 55 60

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 256

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 2631_G01 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 256

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg His Val Gln Ile Tyr Ser Asp Trp Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 257
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_G03 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 257

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Tyr Val Gln Leu Tyr Ser Asp Trp Gly
35 40 45

Pro Met Tyr Ile Tyr Thr Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
50 55 60

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 258
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2631_H09 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 258

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val Gln Val Phe Ser Asp Leu Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 259
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: 2632_G01 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 259

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

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

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 260
<211> 110
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: 4079_A04 w/o his tag and N-terminal methionine and w/
C-terminal proline

<400> 260

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Gln Val Gln Met Tyr Ser Asp Trp Gly
35 40 45

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

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

Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
85 90 95

Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Asp Lys Pro Ser Gln Pro
100 105 110

<210> 261

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic: PCSK9-PKE2 tandem Adnectin w/o his tag and N-terminal
methionine 5190_E01 (ATI-1676)

<400> 261

Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
1 5 10 15

Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Glu Gly Tyr Gly Tyr
20 25 30

Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
35 40 45

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

Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Glu Phe Asp Phe
65 70 75 80

Pro Gly Ala Gly Tyr Tyr His Arg Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
85 90 95

Glu Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro
100 105 110

Ser Pro Ser Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala
115 120 125

Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr
130 135 140

Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser
145 150 155 160

Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser
165 170 175

Lys Ser Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr
180 185 190

Ile Thr Val Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser
195 200 205

Lys Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
210 215

<210> 262
<211> 100
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Exemplary linker

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(100)
<223> any Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro may or may not be present

<400> 262

Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro
1 5 10 15

Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser
20 25 30

Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro
35 40 45

Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu
50 55 60

Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro
65 70 75 80

Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro
85 90 95

Thr Pro Glu Pro
100

<210> 263
<211> 61
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic: Exemplary linker

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(60)
<223> any Glu Glu Glu Glu Asp Glu may or may not be present

<400> 263

Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu
1 5 10 15

Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu
20 25 30

Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu
35 40 45

Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu
50 55 60

<210> 264
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic

<400> 264

Trp Gln Val Gln Met Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Lys
1 5 10 15

<210> 265
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic

<400> 265

Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln
1 5 10 15

<210> 266
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic

<400> 266

Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Trp Gly Pro Leu Tyr Ile Tyr Asn
1 5 10 15

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Полипептид, содержащий десятый домен фибронектина III типа ($^{10}\text{Fn3}$), причем $^{10}\text{Fn3}$ домен содержит а) петли АВ, ВС, CD, DE, EF и FG, б) петлю CD с измененной аминокислотной последовательностью относительно последовательности соответствующей петле CD человеческого $^{10}\text{Fn3}$ домена, с) причем полипептид связывается с сывороточным альбумином человека с K_D менее 500 нМ, и д) причем $^{10}\text{Fn3}$ домен дополнительно связывается с одним или несколькими из сывороточного альбумина макака-резус, сывороточного альбумина яванского макака, сывороточного альбумина мыши и сывороточного альбумина крысы с K_D менее 500 нМ, например менее 100 нМ или менее 10 нМ.

2. Полипептид по п. 1, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывается с:

а) сывороточным альбумином макака-резус и сывороточным альбумином яванского макака,

б) сывороточным альбумином мыши и сывороточным альбумином крысы или

с) сывороточным альбумином макака-резус, сывороточным альбумином яванского макака, сывороточным альбумином мыши и сывороточным альбумином крысы.

3. Полипептид по любому из предыдущих пунктов, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывает сывороточный альбумин в диапазоне рН от 5,5 до 7,4.

4. Полипептид по любому из предыдущих пунктов, причем $^{10}\text{Fn3}$ домен связывается с доменом I-II HSA.

5. Полипептид по любому из предыдущих пунктов, причем петля CD содержит аминокислотную последовательность, соответствующую формуле G-X₁-X₂-V-X₃-X₄-X₅-S-X₆-X₇-G-X₈-X₉-Y-X₁₀-X₁₁-X₁₂-E, где,

(а) X₁ выбран из группы, состоящей из R или W;

(б) X₂ выбран из группы, состоящей из H, E, D, Y или Q;

(с) X₃ выбран из группы, состоящей из Q или H;

(д) X₄ выбран из группы, состоящей из I, K, M, Q, L или V;

(е) X₅ выбран из группы, состоящей из Y, F или N;

(ф) X₆ выбран из группы, состоящей из D, V или E;

(г) X₇ выбран из группы, состоящей из L, W или F;

- (h) X₈ выбран из группы, состоящей из Р или Т;
- (i) X₉ выбран из группы, состоящей из L или M;
- (j) X₁₀ выбран из группы, состоящей из I или V;
- (k) X₁₁ выбран из группы, состоящей из Y или F; и
- (l) X₁₂ выбран из группы, состоящей из T, S, Q, N или A.

6. Полипептид по п. 5, причем петля CD содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 106, 113, 101-105, 107-112 и 114-125.

7. Полипептид по любому из предыдущих пунктов, причем полипептид содержит аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную отличным от петли CD участкам SEQ ID NO: 81, 88, 23-80, 82-87, 89-100, 184-209 и 235-260.

8. Полипептид по любому из предыдущих пунктов, причем полипептид содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична любой из SEQ ID NO: 81, 88, 23-80, 82-87, 89-100, 184-209 и 235-260.

9. Гибридный полипептид, содержащий десятый домен фибронектина III типа (¹⁰Fn3) и гетерологичный белок, причем ¹⁰Fn3 домен содержит а) петли AB, BC, CD, DE, EF и FG, б) петлю CD с измененной аминокислотной последовательностью относительно последовательности соответствующей петли человеческого ¹⁰Fn3 домена, с) причем полипептид связывается с сывороточным альбумином человека с K_D менее 500 нМ, и причем ¹⁰Fn3 домен дополнительно связывается с одним или несколькими из сывороточного альбумина макака-резус, сывороточного альбумина яванского макака, сывороточного альбумина мыши и сывороточного альбумина крысы с K_D менее 500 нМ, например менее 100 нМ или менее 10 нМ.

10. Гибридный полипептид по п. 9, причем гетерологичный белок представляет собой терапевтический фрагмент.

11. Гибридный полипептид по п. 9, причем гетерологичный белок представляет собой полипептид, содержащий ¹⁰Fn3 домен.

12. Гибридный полипептид по п. 11, причем ¹⁰Fn3 домен связывается с целевым белком, отличным от сывороточного альбумина, таким как PCSK9.

13. Гибридный полипептид по п. 9, причем ¹⁰Fn3 домен содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичную SEQ ID NO: 81, 88, 23-80, 82-87, 89-100, 184-209 и 235-260.

14. Полипептид, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 81, 88, 23-80, 82-87, 89-100, 168-169, 184-209 и 235-261.

15. Композиция, содержащая полипептид по любому из предыдущих пунктов и носитель.

16. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая полипептид по любому из пунктов 1-14.

17. Выделенная молекула нуклеиновой кислоты по п. 16, причем молекула нуклеиновой кислоты имеет последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-151 и 172, или последовательность, которая по меньшей мере на 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична ей.

18. Вектор экспрессии, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую полипептид по любому из пп. 1-14.

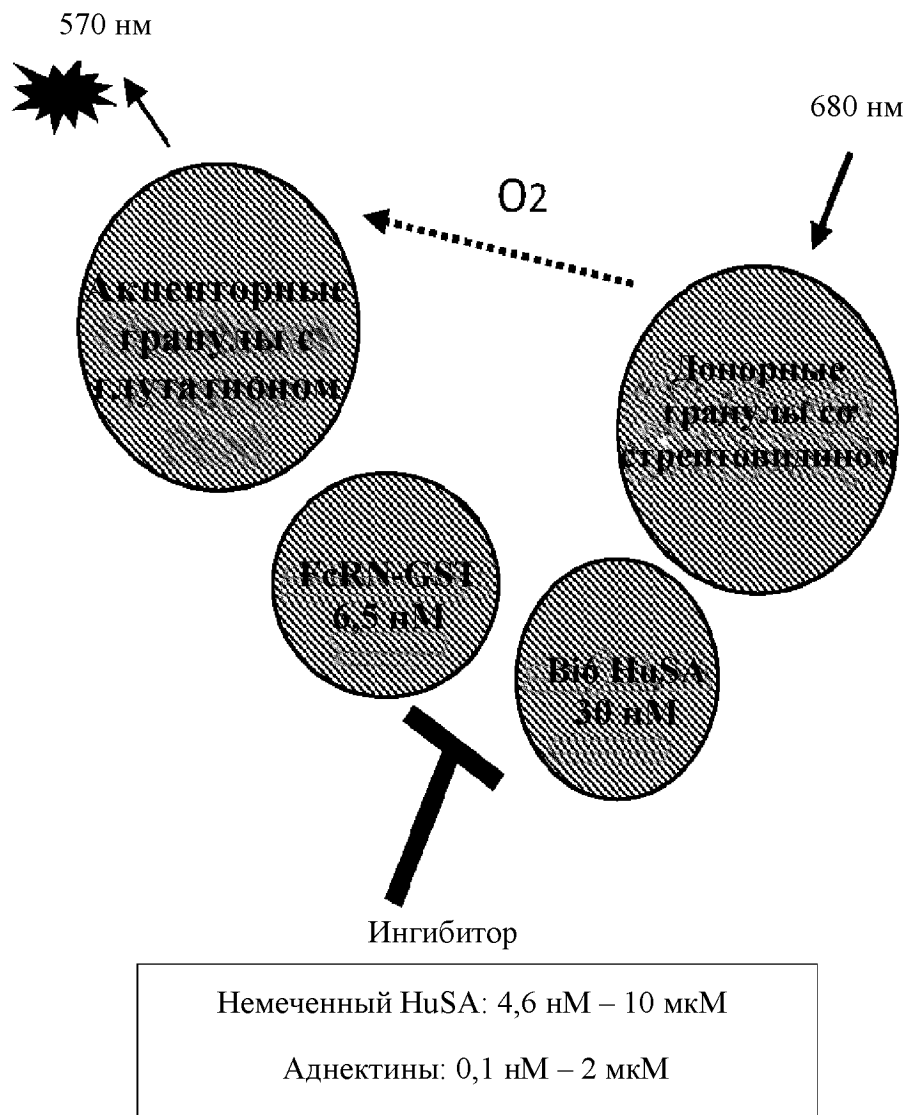
19. Клетка, содержащая молекулу нуклеиновой кислоты по п. 16 или п. 17 или вектор экспрессии по п. 18.

20. Способ получения полипептидов по любому из пп. 1-14, предусматривающий культивирование клетки по п. 19 в условиях, подходящих для экспрессии полипептида, и очистку полипептида.

Фиг. 1

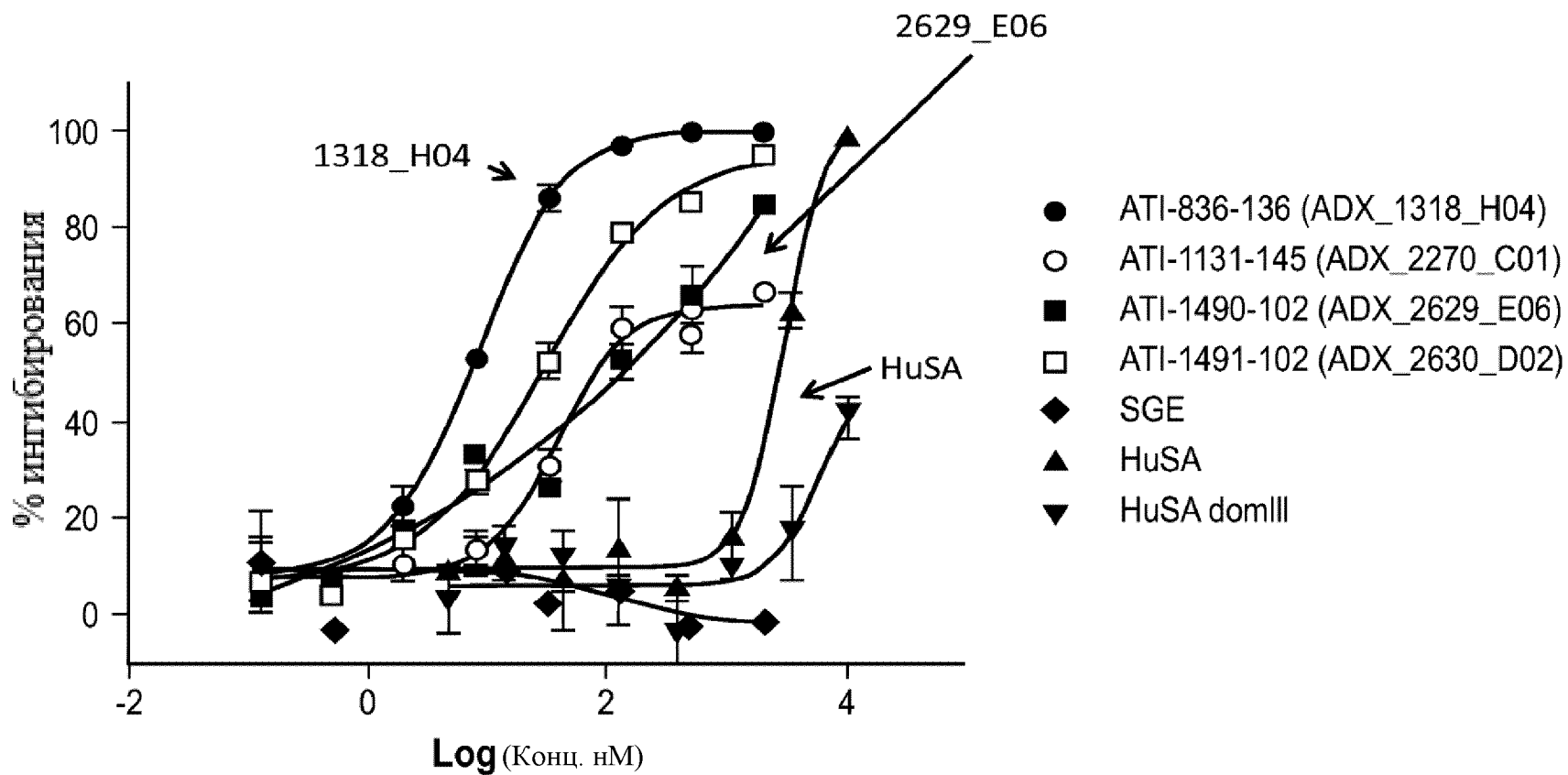
Конкурентный формат анализа

Alphascreen

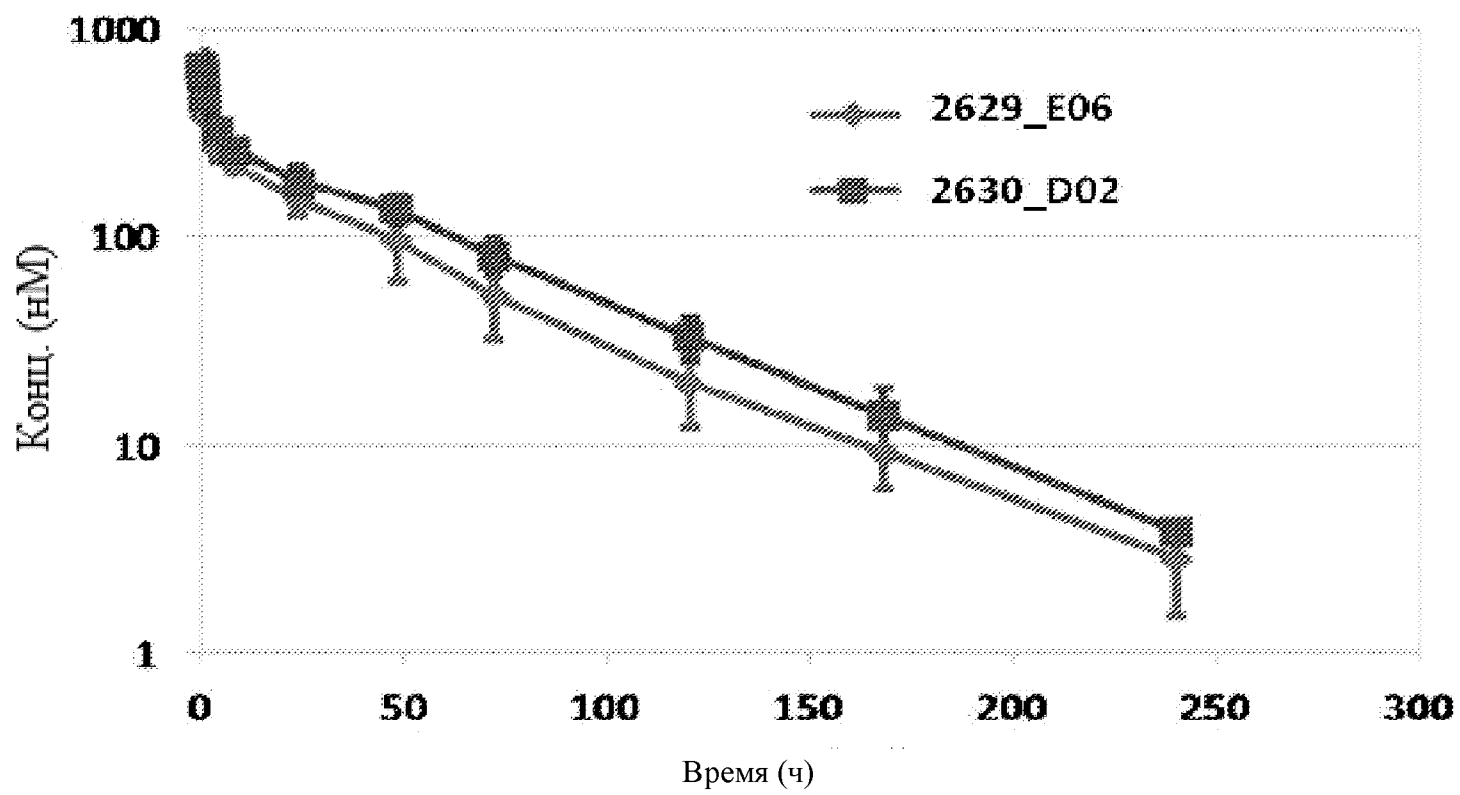


Фиг. 2

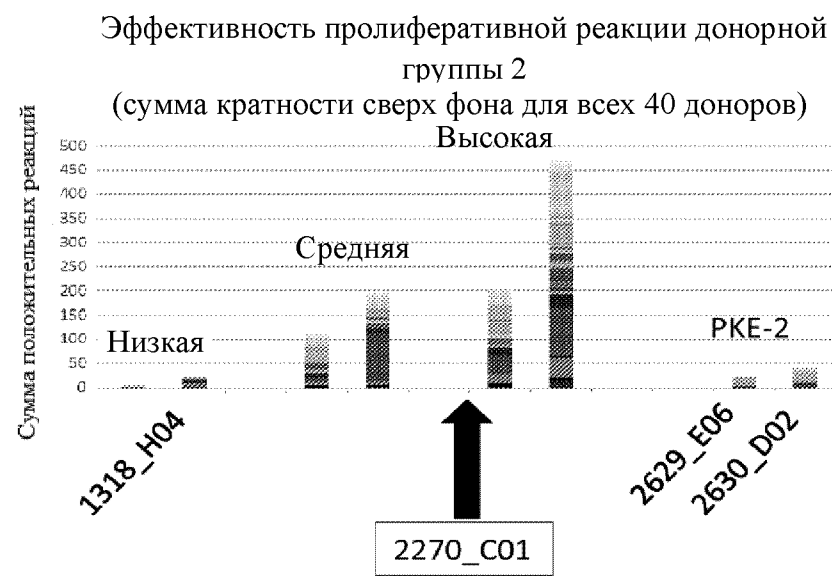
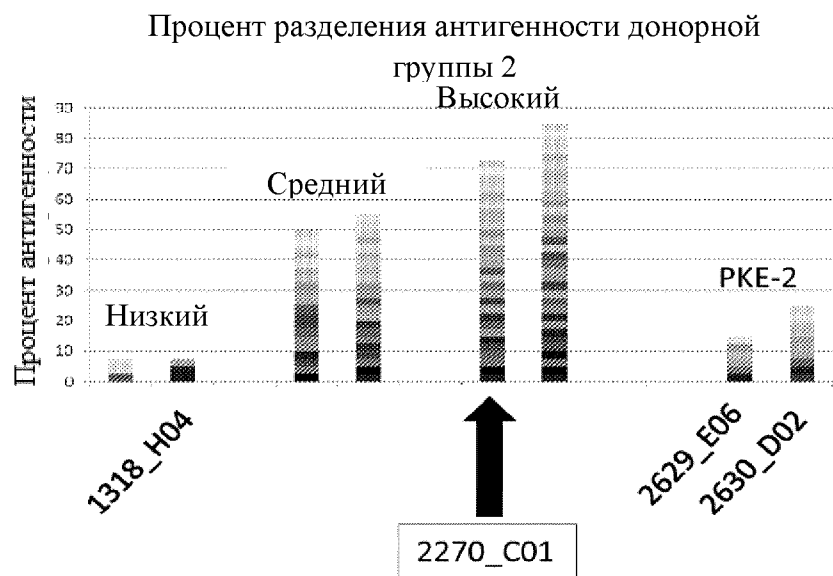
Конкурирование с hFcRn за связывание HSA



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

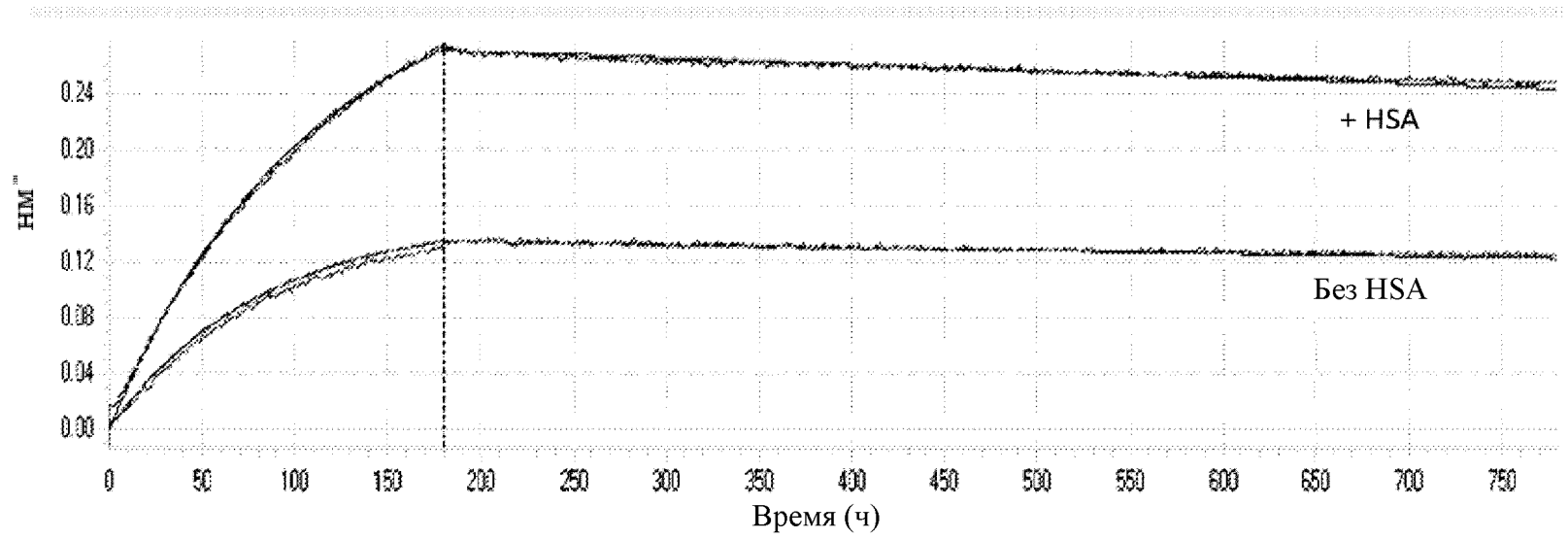
| Аднектин | | 2987_H07 (myo) | | 2013_E01 (PCSK9) | |
|-----------------|------------------------------|----------------|--------------|------------------|------------|
| РКЕ | HSA EC ₅₀ (нМ) | X-РКЕ | РКЕ-X | X-РКЕ | РКЕ-X |
| 1318_H04 | 5 | 31% (8/26) | 0% (0/26) | 31% (8/26) | X |
| 2629_E06 | 20 | 30% (3/10) | 80% (8/10) | 90% (9/10) | 80% (8/10) |
| 2630_D02 | 9 | 20% (2/10) | 60% (6/10) | 50% (5/10) | 80% (8/10) |

HSA EC_{50_тандем} / EC_{50_моно}

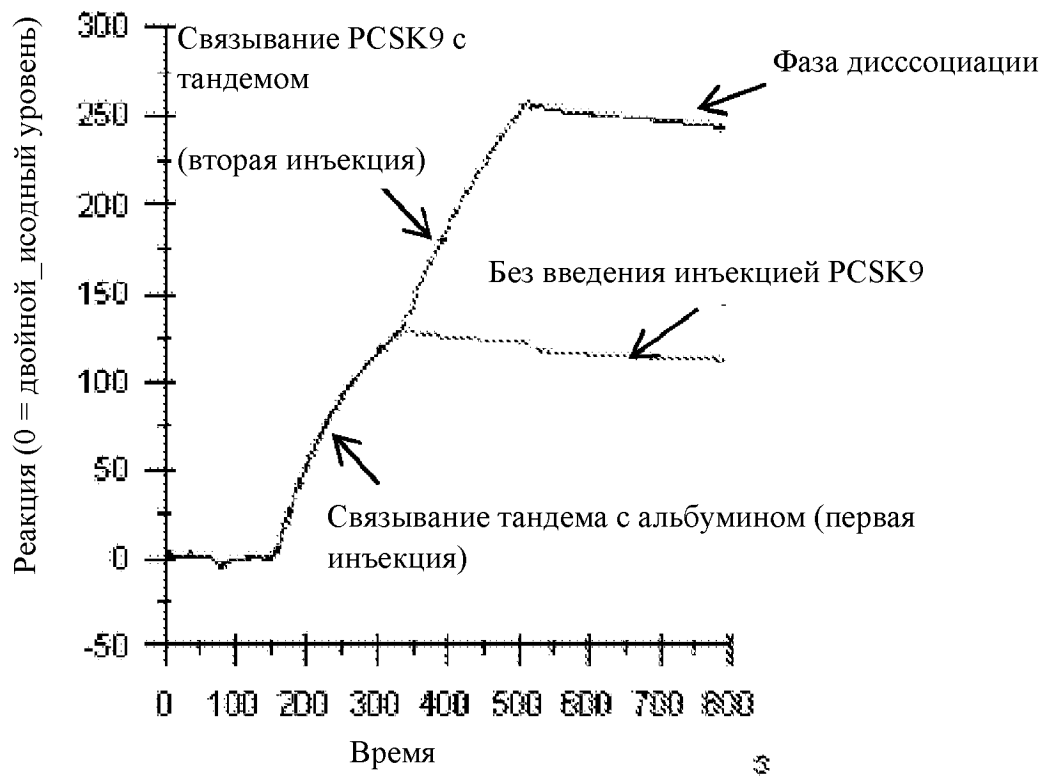
| |
|------|
| ≤ 2 |
| 2—5 |
| 5—10 |
| 10 |

X = тандемы не образуются

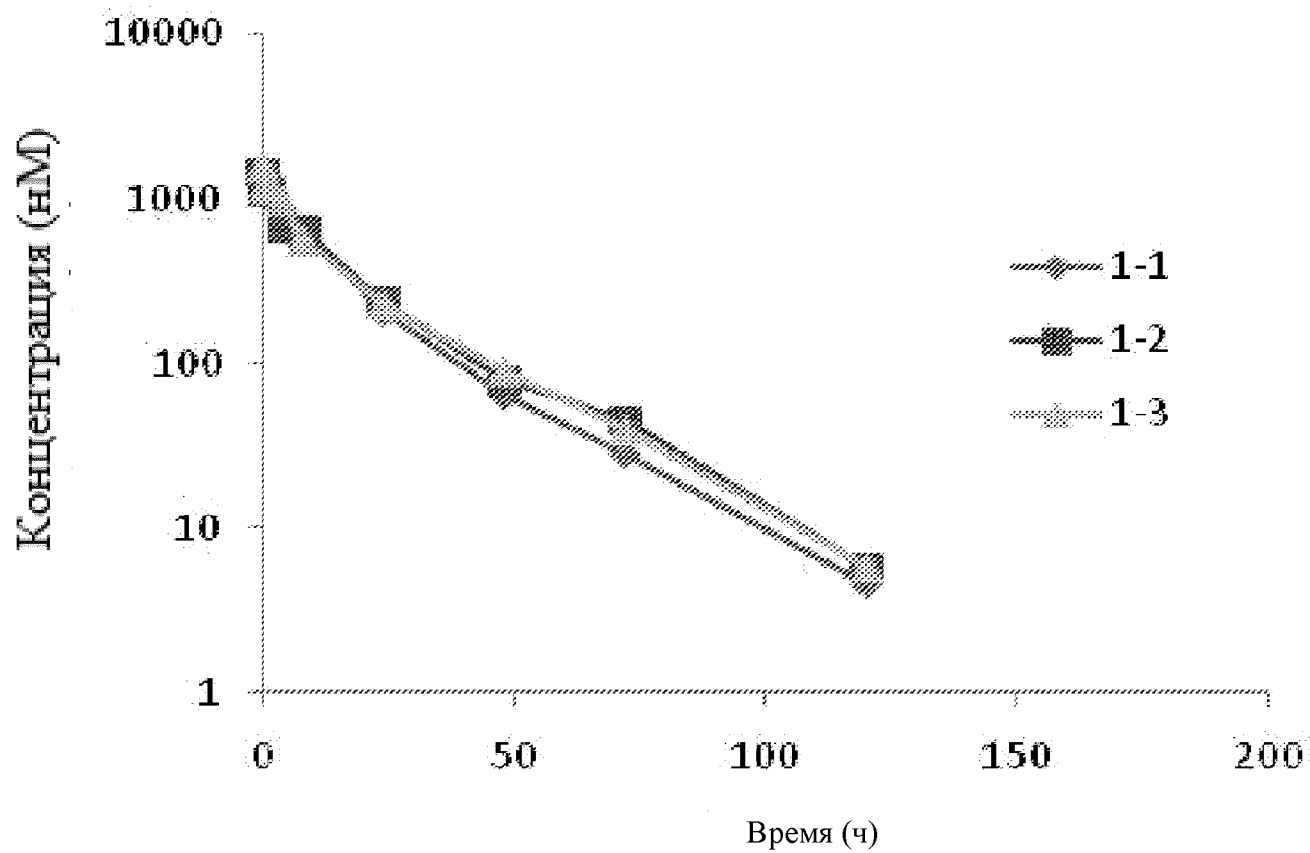
Фиг. 6



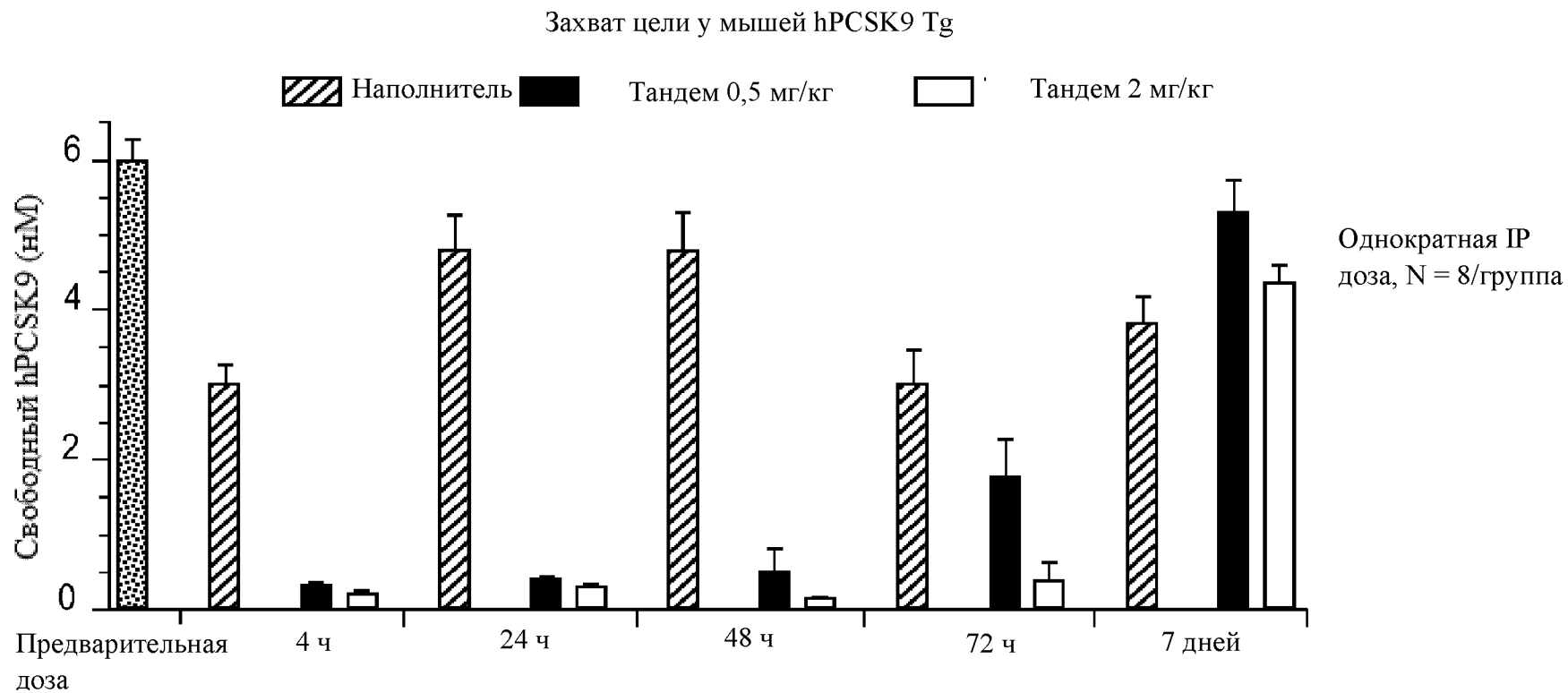
Фиг. 7



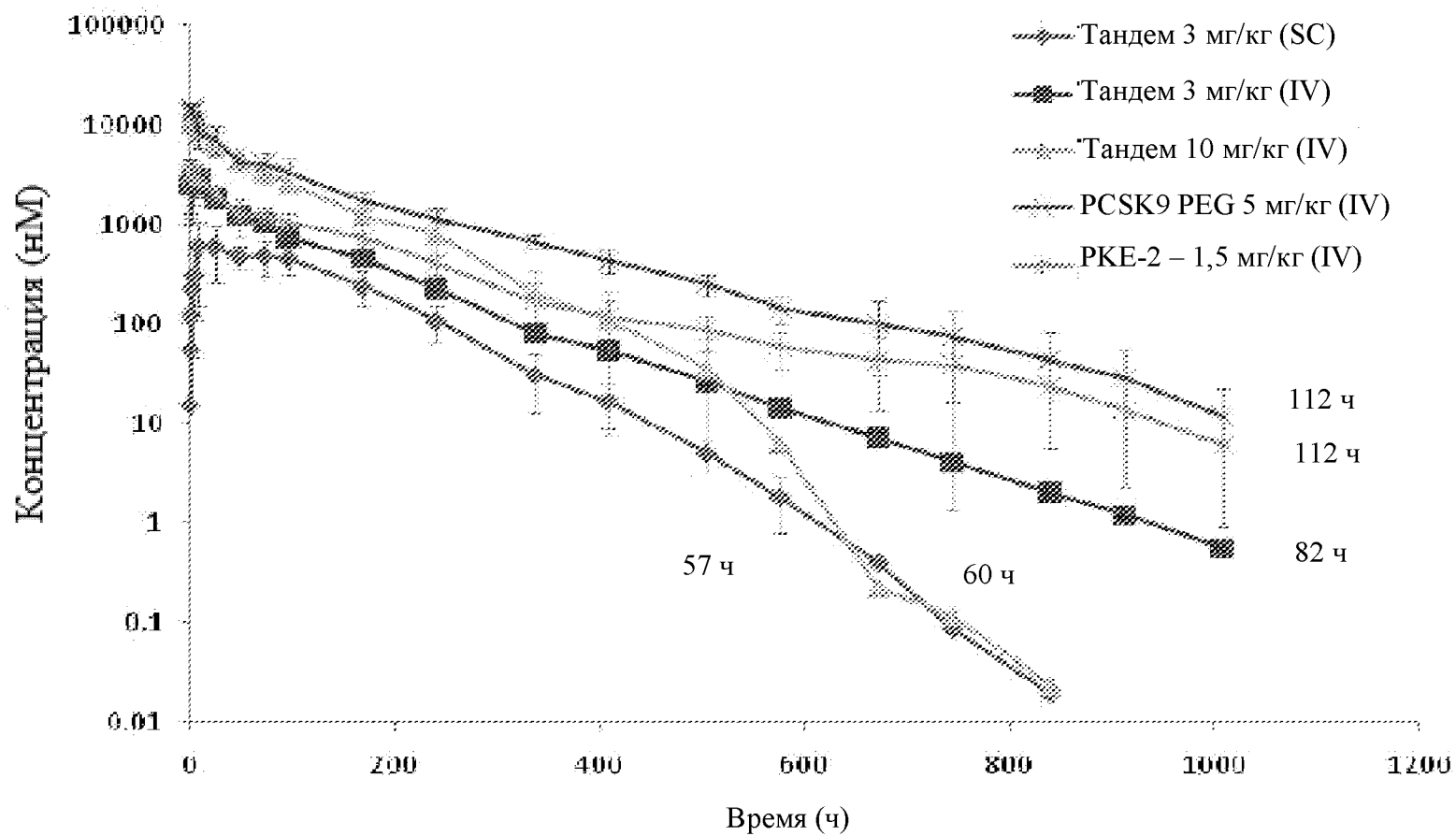
Фиг. 8



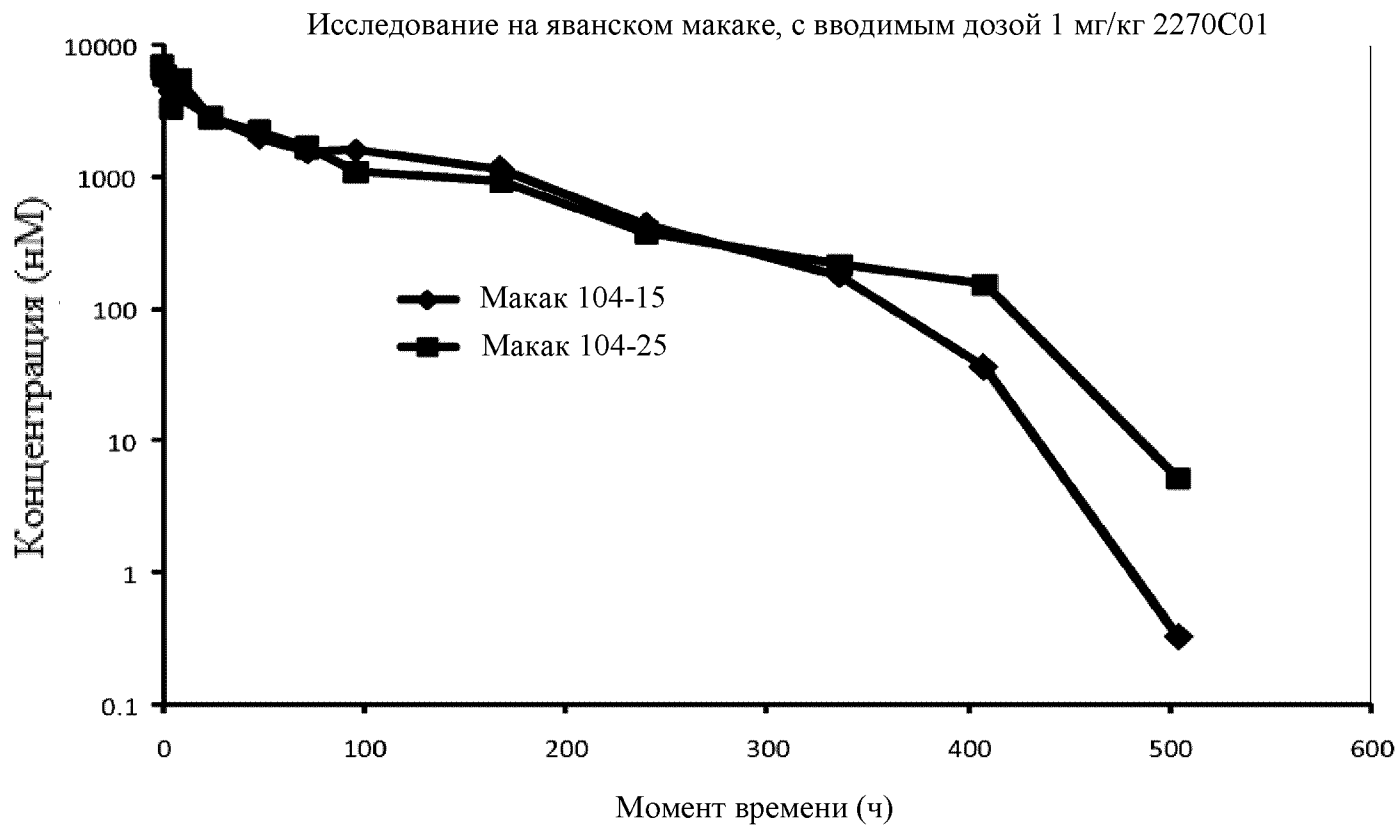
Фиг. 9



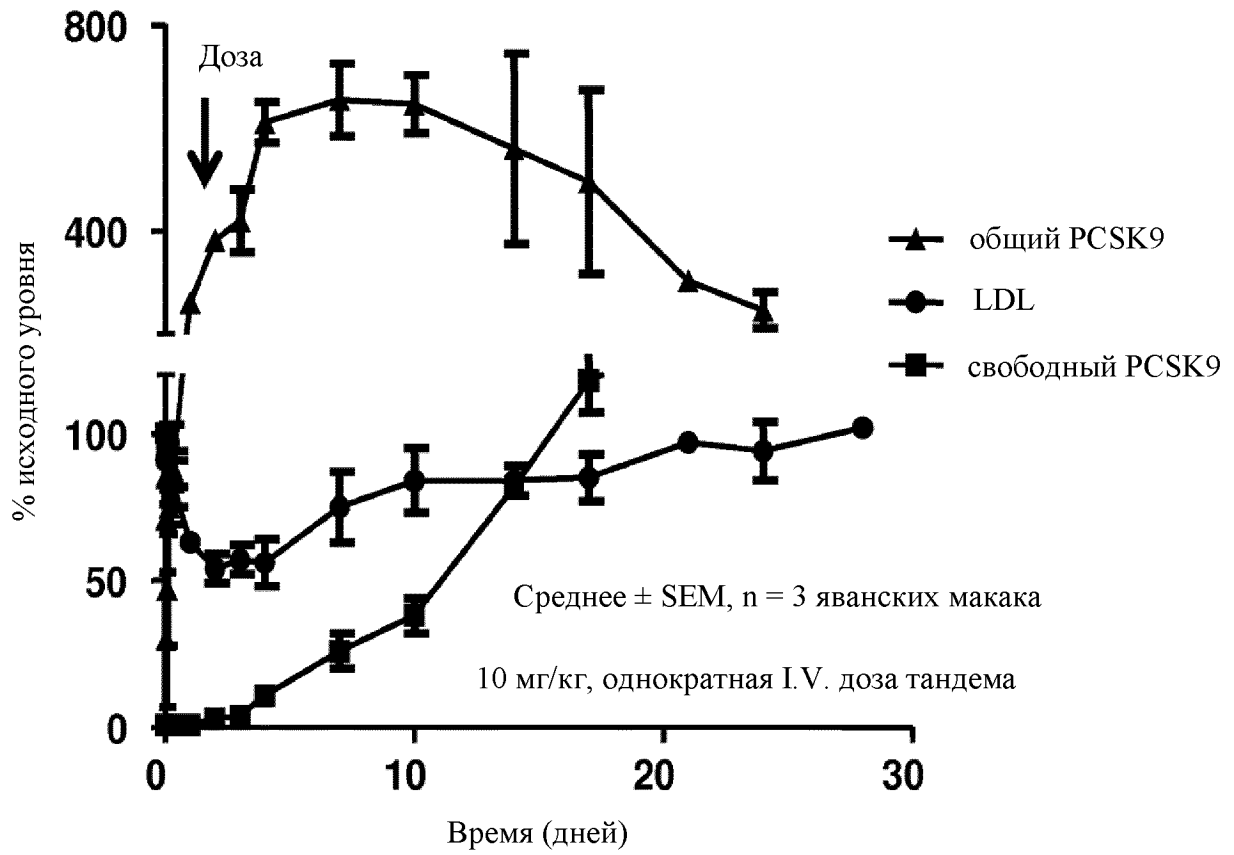
Фиг. 10



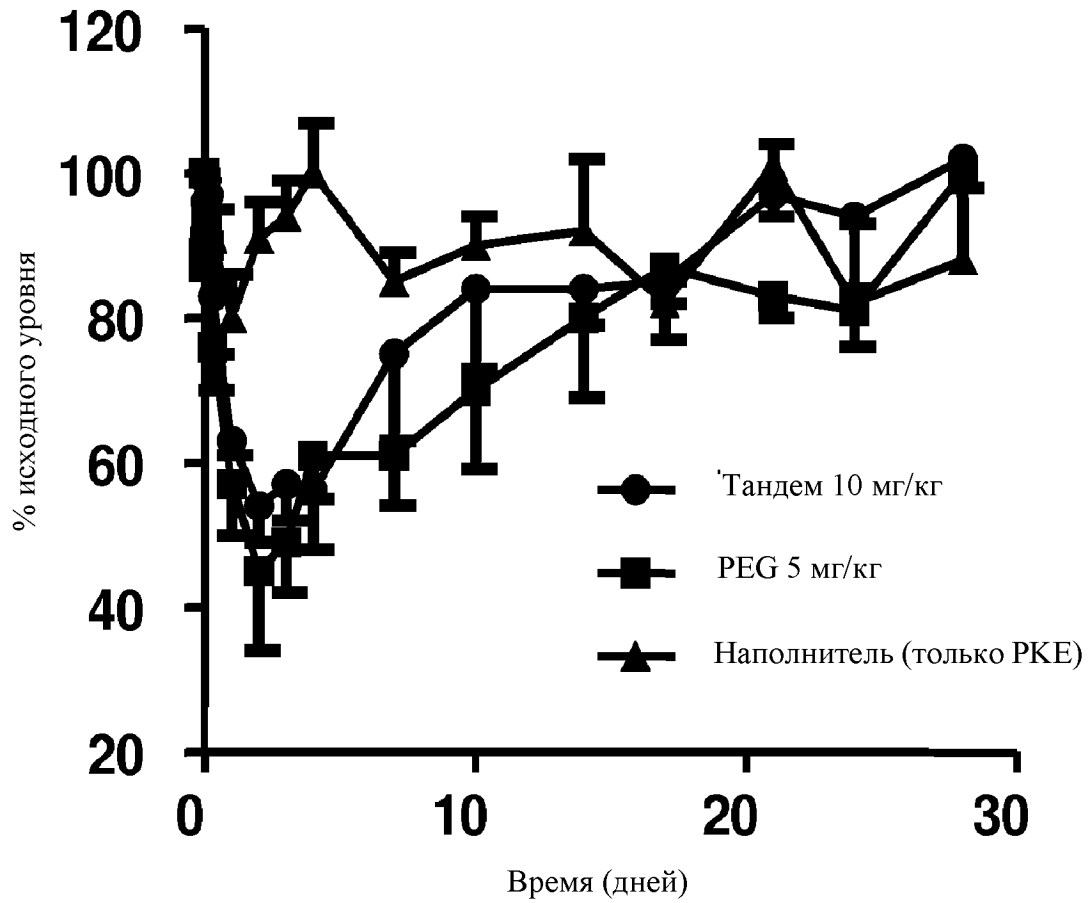
Фиг. 11



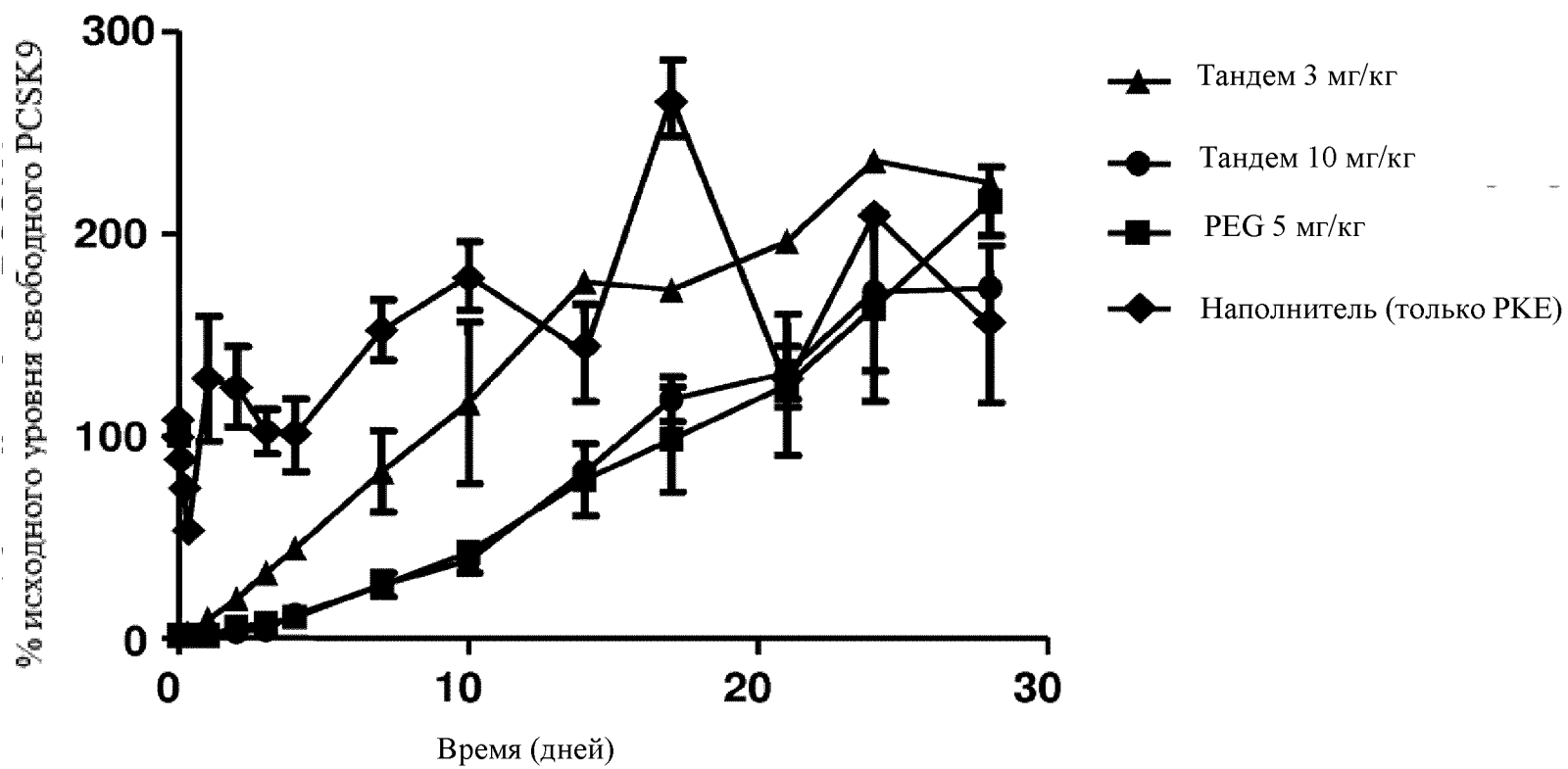
Фиг. 12



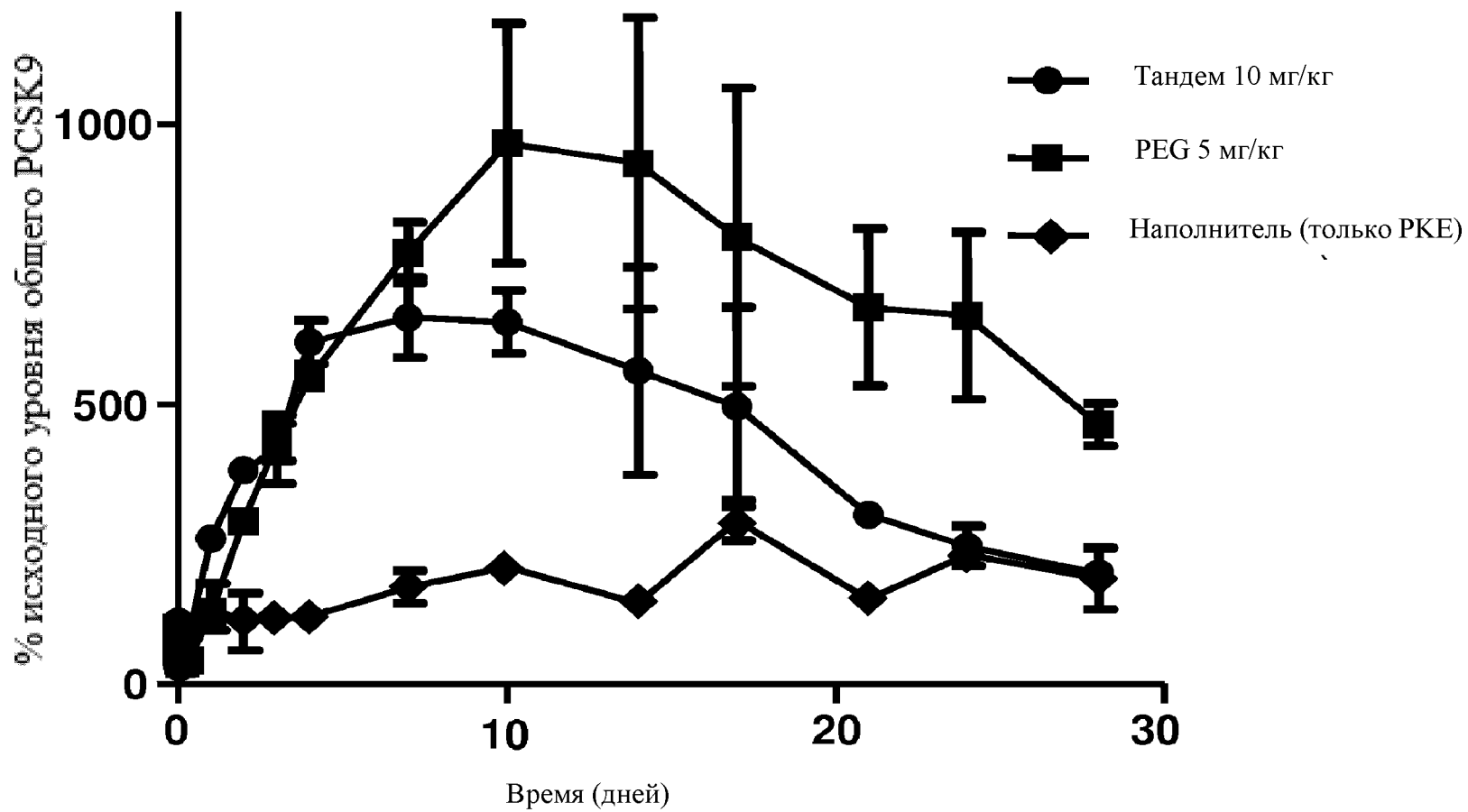
Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15

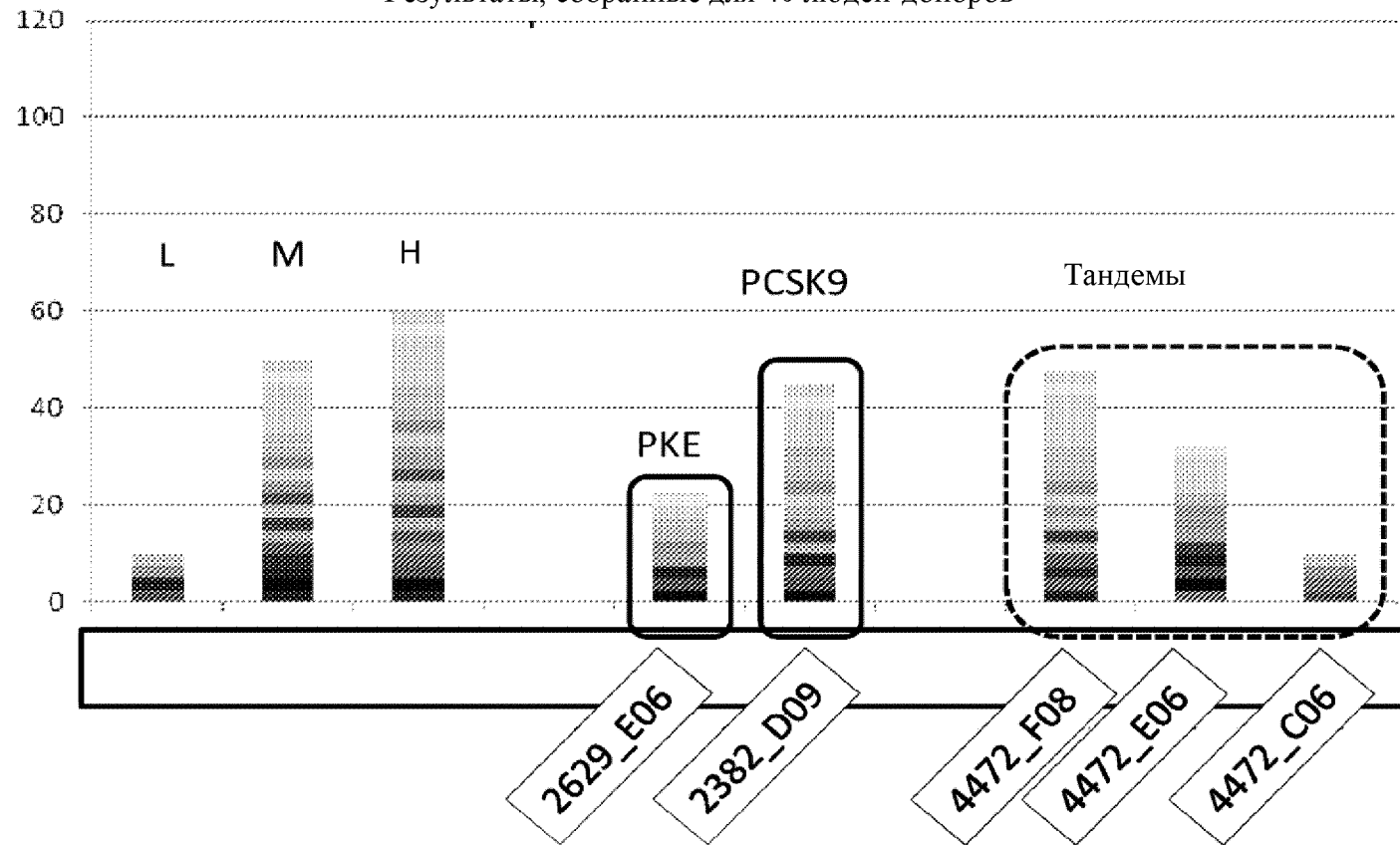


Фиг. 16

Анализ пролиферации РВМС

Реакция антигенности донора

Результаты, собранные для 40 людей-доноров



Фиг. 17

| Аднектин | Полная последовательность белка |
|----------|--|
| 2270_C01 | MASTSGVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGWVQVQMYSDWGPLYIYKEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2629_A09 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGRHVQIYSDLGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2629_A11 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGRHVHIYSDWGPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2629_C10 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVQKYSVLGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2629_D09 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVQMYSDLGPLYVYSEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2629_E05 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVQKFSWDGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2629_E06 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2629_F04 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVHQYSDWGPMYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2629_H01 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVXYRITYGREVHKNSDWGTLIYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVXAVTGSGEXPASSKPISINYRTEIDKXSQHFFFFFFF* |
| 2629_H06 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVQKYSDLGPLYIYAFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2629_H07 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVHLYSDWGPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2630_A02 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGRHVQIYSDLGPLYIFSEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2630_A11 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVHMYSDFGPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2630_D02 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVQKYSWDGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2630_D10 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVQMYSDLGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2630_F04 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVQMYSDLGPLYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVGYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2630_G03 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGRHVQIYSDLGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2630_G10 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGREVQIYSDWGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2630_H03 | MGVSDVPRDLEVVAATXTSLISWDAPAVTVXYRITYGREVQKYSWDGPLYIYQFTVPGSXSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKXSQHFFFFFFF* |
| 2631_B04 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDVPAVTVRYRITYGRHVHLYSEFGPMYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2631_E03 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGRDVMHMYSDWGPMYIYQFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2631_G01 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGRHVQIYSDWGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2631_G03 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGRYVQLYSDWGPMYIYTEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2631_H09 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGRVQVQVFDLGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 2632_G01 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGRVQVQIYSDWGPLYIYNEFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |
| 4079_A04 | MGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAVTVRYRITYGRVQVQMYSDWGPLYIYAFTVPGSKSTATISGLKPGVDYITITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTEIDKPSQHFFFFFFF* |

Фиг. 18А

| | |
|----------|--|
| 2270_C01 | ATGGCTAGCACTAGTGGCGTGCCGCGCGACTTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCGACGCTCTGCTTATTAGCTGGGATGCACCTGCCGTACAGTGAGATATTATCG CATTACATATGGTTGGCAGGTTCAAGATGACTCTGACTGGGGTCCGCTGTACATCTACAAAGAGTTCACGGTACCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGTC TCAAACCTGGAGTTGATTACACCATTACGGTATACGCAGTCAACGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATTATCGGACCGAAGGCGAC AAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2629_A09 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCGACGCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTACAGTGCGATATTACCGCAT CACTTACGGACGGCATGTTCAAGATCTTCTGACTTAGGCCCGCTGTACATCTACACAGAGTTCAGTGTGCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAA ACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACC ATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2629_A11 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCGACGCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTACAGTGCGATATTACCGCAT CACTTACGGTAGACACGTTTATATCTACTCAGACTGGGGTCCGATGTACATCTACACAGAGTTCAGTGTGCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAA ACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACC ATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2629_C10 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCGACGCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTACAGTGCGATATTACCGCAT CACTTACGGGAGAGAGGTTCAAGAACTCTGTCTGGGTCCACTGTACATATAACGGAGTTCAGTGTGCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAA AACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACC CATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2629_D09 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCGACGCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTACAGTGCGATATTACCGCAT CACTTACGGGAGGGAGGTTCAAGATGACTCTGACTTGGGTCCATTGTACGTATACAGCGAGTTCAGTGTGCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAA AACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACC CATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2629_E05 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCGACGCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTACAGTGCGATATTACCGCAT CACTTACGGTCGGGAGGTACAGAAGTTCGGACTGGGGTCCGCTGTACATCTACACAGAGTTCAGTGTGCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAA AACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACC CATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2629_E06 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCGACGCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTACAGTGCGATATTACCGCAT CACTTACGGCAGGGAGGTTCAAGACTCGGACTTGGGTCCGTTGTACATCTACCAAGAGTTCAGTGTGCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAA AACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACC CATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2629_F04 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCGACGCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTACAGTGCGATATTACCGCAT CACTTACGGTAGGGAGGTTCAATACTCTGACTGGGGTCCGATGTACATCTACAACGAGTTCAGTGTGCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAA AACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACC CATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2629_H01 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCGACGCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTACAGTGCRATATTACCGCAT CACTTACGGTCGGGAGGTTCAAGAAGTCAAGACTGGGGTACGCTGTACATCTACACAGAGTTCAGTGTGCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAA AACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGARCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAA MCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2629_H06 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCGACGCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTACAGTGCGATATTACCGCAT CACTTACGGACGGGAGGTTCAAGATTCAGACTTGGGTCCACTGTACATCTACGCAGAGTTCAGTGTGCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAA AACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACC CATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |

Фиг. 18В

| | |
|----------|--|
| 2629_H07 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCATATTACCGCATCACTTACGGGCGGGAGGTCCASCTGTACTCCGACTGGGGGCCGATGTACATCTACACAGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCA GCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2630_A02 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTACCACCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCATATTACCGCATCACTTACGGTAGGCACGTTCAAATGACTCTGACCTTGGTCCGTTGTACATCTCAGTGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAG CAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2630_A11 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCATATTACCGCATCACTTACGGACGGAGGTTCAATGTACTCTGACTTCCGTCGGATGTACATATAACAGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAG CAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2630_D02 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCATATTACCGCATCACTTACGGTAGAGAAGTTCAGAAATACTGACTGGGGCCGCTCTACATCTACAATGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAG CAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2630_D10 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCATATTACCGCATCACTTACGGTCCGGAGGTTCAAGATGACTCGGACTTGGGTCCGCTCTACATCTACAACGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAG CAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2630_F04 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCATATTACCGCATCACTTACGGTAGAGAGGTCCAGATGACTCAGACTTGGGGCCGCTGTACATCTATAACAGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGTTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCA GCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2630_G03 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCATATTACCGCATCACTTACGGACGGCATGTTAGATCTACTCCGACTTGGGTCTCTGTATATCTACAATGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAG CAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2630_G10 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCATATTACCGCATCACTTACGGTCCGGAGGTTCAAATATACTCTGACTGGGGTCCGCTGTATATATAACAGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAG CAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2630_H03 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCATATTACCGCATCACTTACGGACGTGAAGTRCAGAAATACTCTGACTGGGGCCGCTGTACATCTACCAAGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCRAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAG CAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAAMCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2631_B04 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGTACCTGCCGTTACAGTGCATATTACCGCATCACTTACGGCAGGCACGTACATTTGACTCGGAGTTCGGTCCGATGTATATCTACAACGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAG CAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |

Фиг. 18С

| | |
|----------|---|
| 2631_E03 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCGAT ATTACCGCATCACTTACGGTAGGGATGTCCACATGTA CTCTGACTGGGGTCCGATGTACATATAACCAAGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTT CCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2631_G01 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCGAT ATTACCGCATCACTTACGGTAGGCATGTTAGATATACTCGGACTGGGGTCCGCTGTACATCTACAATGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACA GCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTT CATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2631_G03 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTACTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCGAT ATTACCGCATCACTTACGGAAGGTATGTTAGCTATACTCTGACTGGGGTCCGATGTACATCTACACGGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACA GCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTT CATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2631_H09 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCGAT ATTACCGCATCACTTACGGACGGCAAGTGCAAGTGTCTCAGACTTGGGTCCGCTGTACATATAACAACGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTT CCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 2632_G01 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCGAT ATTACCGCATCACTTACGGTAGACAGGTGCAGATCTACTCTGACTGGGGACCGCTGTACATCTACAATGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCAC AGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTT CCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 3852_F10 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGTTGACGGTCGAT ATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTCTAAATCTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAA CCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTCCGTACGAATTCATTTCCCGTACACTCATTACTCTTAAACCAATTTCCATTAATTACC GCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 4079_A04 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCGAT ATTACCGCATCACTTACGGTAGGCAGGTACAGATGTA CTCTGACTGGGGTCCACTTACATCTACGCCGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACA GCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTT CATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCACTGA |
| 5190_E01 | ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGGGTACGGT TATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAA ACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCCGGCGCCGTTACTACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGGACCGA ACCGAGCACACCTCCGACCCCGAGTCCGTCAACACCACCGACACCGTCAACCGAGCGGAGTTTCTGACGTCCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCC ACCCCCACCAGCCTGCTGATCAGCTGGGATGCACCTGCCGTCACAGTGCGATATTACCGCATCACTTACGGCAGGGAGGTTTACAGAGTACTCGGACT TGGGTCCGTTGTACATCTACCAAGAGTTCACTGTGCCTGGGAGCAAGTCCACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACT GTGTATGCTGTCACTGGCTCTGGAGAGAGCCCCGCAAGCAGCAAGCCAATTTCCATTAATTACCGCACACCGTGA |