

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **035372**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.06.03

(21) Номер заявки
201790273

(22) Дата подачи заявки
2015.07.29

(51) Int. Cl. **C07K 14/195** (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **ФЛАГЕЛЛИНОВЫЕ КОМПОЗИЦИИ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

(31) **62/031,116; 62/110,744; 62/117,366**

(32) **2014.07.30; 2015.02.02; 2015.02.17**

(33) **US**

(43) **2017.07.31**

(86) **PCT/US2015/042684**

(87) **WO 2016/019034 2016.02.04**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДЖИНОУМ ПРОТЕКШН, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Метт Вадим (US)

(74) Представитель:
**Харин А.В., Буре Н.Н., Стойко Г.В.
(RU)**

(56) **US-A1-2013004515**
US-A1-2009246303
LEIGH D. NICHOLAS et al. A Flagellin-Derived Toll-Like Receptor 5 Agonist Stimulates Cytotoxic Lymphocyte-Mediated Tumor Immunity, PLOS ONE, Jan. 2014, Vol. 9, issue 1, e85587, p. 1-10

(57) Изобретение относится к композициям, содержащим улучшенные конструкции, относящиеся к флагеллину, и способам их применения при лечении различных заболеваний.

B1

035372

035372

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Заявка на данное изобретение испрашивает приоритет на основании предварительных заявок на патент США № 62/031116, поданной 30 июля 2014 г.; 62/110744, поданной 2 февраля 2015 г.; и 62/117366, поданной 17 февраля 2015 г., содержание которых полностью включено в настоящее описание посредством ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к способам и композициям, которые можно применять для лечения, профилактики и/или диагностики различных заболеваний, включая рак и радиационно-ассоциированные заболевания.

Описание текстового файла, представленного в электронном виде

Содержание текстового файла, представленного в электронном виде вместе с данной заявкой, полностью включено в настоящее описание посредством ссылки: Копия перечня последовательностей в машиночитаемом формате (название файла: CLE-016PC-SequenceListing.txt; дата записи: 28 июля 2015 г.; размер файла: 245 кБ).

Уровень техники

Toll-подобные рецепторы (TLR) представляют собой мембранные гликопротеины I типа, которые являются ключевыми рецепторами врожденного иммунитета. Известные у человека 10 TLR распознают различные микробиологические антигены и при активации связыванием с лигандом опосредуют быструю выработку цитокинов и хемокинов. Дополнительно к их роли в осуществлении иммунной защиты организма хозяина TLR играют роль в прогрессировании и развитии рака и защите клеток.

TLR5 связывает флагеллин, глобулярный белок, который сворачивается в полый цилиндр с образованием филамента в бактериальных жгутиках. Связывание флагеллина с TLR5 инициирует каскад провоспалительных молекул, в особенности фактора NF-κB и его мишеней. Агонисты TLR5, полученные из флагеллина, разрабатывают в качестве лекарственных средств для различных заболеваний. Однако данные молекулы могут страдать от специфических ограничений, включая, например, неудовлетворительное связывание и активацию сигнализации. Дополнительно, многие возможные организмы хозяева уже вырабатывают анти-флагеллиновые антитела, которые также направленно воздействуют на производные агонистов TLR5, таким образом, выводя из организма лекарственные средства и ограничивая их эффективность. Кроме того, по своей природе иммуногенные бактериальные белки - производные флагеллина могут обладать неблагоприятной антигенностью и иммуногенностью и, таким образом, требовать улучшения.

Сущность изобретения

Соответственно, согласно настоящему изобретению предложены композиции, относящиеся к флагеллину, и способы, которые преодолевают ограничения, наблюдаемые среди данной группы биологических лекарственных препаратов. Настоящее изобретение основано, в частности, на открытии, что минимизированные конструкции композиций, относящихся к флагеллину, могут демонстрировать сниженную иммуногенность и улучшенную фармакокинетику, вместе с тем все еще сохраняя способность активировать сигнальный путь TLR5. В одном из аспектов согласно настоящему изобретению предложена композиция, относящаяся к флагеллину, которая сохраняет способность активировать сигнальный путь TLR5. В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит мутации, которые снижают антигенность и иммуногенность конструкции. В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, не распознается антителами, нейтрализующими флагеллин (FltC). В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, активирует сигнальный путь TLR5 на том же или похожем уровне, как композиция, относящаяся к полноразмерному флагеллину. В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, демонстрирует улучшенную фармакокинетику по сравнению с композицией, относящейся к полноразмерному флагеллину. В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, демонстрирует увеличенное время задержки в организме. В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, получена из CBLB502 (SEQ ID NO: 2). В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит укороченный один или более доменов. В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит делецию в N-концевом домене. В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит делецию в домене ND0. В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит делецию всего домена ND0. В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит делецию в C-концевом домене. В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит делецию в домене CD0. В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, сохраняет аминокислоты в положениях 470-485 домена CD0. В еще одном дополнительном варианте реализации, композиция, относящаяся к флагеллину, представляет собой CBLB502-S33 (SEQ ID NO: 17).

В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит мутации в эпитопах, распознаваемых нейтрализующими анти-CBLB502 антителами. В некоторых вариантах реали-

зации композиция, относящаяся к флагеллину, включает одну или более мутаций в эпитопах, распознаваемых нейтрализующими анти-CBLB502 антителами, которые ингибируют способность антител нейтрализовывать композицию. В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, включает усеченный вариант одного или более эпитопов и мутацию в одном или более эпитопах, распознаваемых нейтрализующими анти-CBLB502 антителами. В дополнительном варианте реализации мутации содержат замену остатков эпитопа аланином. В дополнительном варианте реализации мутации выбирают из одной или более мутаций D42A, A45G, N68A, N100A, T102A, S104A, S106A, D107A, S110A, D113A, Q117A, E120A, R124A, N127A, Q128A, F131A, N132A, G133A, Q142A, K144A, D151A, G152A, E153A, T154A, Q439A, N440A, R441A, D443A, S444A, T447A, N448A, N451A, N455A, N457A, R460A, Y468A, A469G, T470A, S473A и N474Q. В дополнительном варианте реализации мутировавшие эпитопы содержат один или более следующих остатков: E153, S444, T154, N440, Q142, F131, D443, N68, T447, S110, Q117, R124, D113, E120, N127 и Q128. В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, представляет собой CBLB502-S33MX/"CBLB543" (SEQ ID NO: 150). В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, представляет собой CBLB502-485CT/"BCLB533" (SEQ ID NO: 71).

В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит метку. В еще одном дополнительном варианте реализации метка прикреплена к N-концу композиции, относящейся к флагеллину. В еще одном дополнительном варианте реализации метка прикреплена к C-концу композиции, относящейся к флагеллину. В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит гибкий линкер. В дополнительном варианте реализации гибкий линкер содержит последовательность SEQ ID NO: 16. В еще одном дополнительном варианте реализации гибкий линкер содержит последовательность SEQ ID NO: 242. В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, кодируется любой из нуклеотидных последовательностей, перечисленных в табл. 1. В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит любой из полипептидов, перечисленных в табл. 1.

В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, активирует путь сигнализации TLR5. В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, индуцирует экспрессию NF-κB. В еще одном дополнительном варианте реализации минимизированная композиция, относящаяся к флагеллину, индуцирует экспрессию одного или более цитокинов. В еще одном дополнительном варианте реализации цитокины выбирают из интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-12 (ИЛ-12), хемоаттрактанта кератиноцитов (КК), интерлейкина-10 (ИЛ-10), гранулоцитарного колоние-стимулирующего фактора (Г-КСФ), моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 (MCP-1), фактора некроза опухолей альфа (ФНО-α; TNF-α), моноцитокина, индуцируемого интерфероном гамма (MIG) и макрофагального белка воспаления 2 (MIP-2).

В одном из аспектов согласно настоящему изобретению предложена фармацевтическая композиция, содержащая композицию, относящуюся к флагеллину, согласно настоящему изобретению с фармацевтически приемлемым носителем. В одном из аспектов согласно настоящему изобретению предложен способ стимулирования сигнального пути TLR5, включающий введение композиции, относящейся к флагеллину, согласно настоящему изобретению субъекту, который нуждается в этом. В некоторых вариантах реализации субъект страдает раком. В дополнительном варианте реализации опухоль экспрессирует TLR5. В дополнительном варианте реализации опухоль не экспрессирует TLR5. В еще одном дополнительном варианте реализации рак выбирают из рака молочной железы, рака легких, рака толстой кишки, рака почки, рака печени, рака яичников, рака предстательной железы, рака яичка, рака мочевого пузыря, рака лимфатической системы, рака прямой кишки, рака поджелудочной железы, рака пищевода, рака желудка, рака шейки матки, рака щитовидной железы, рака кожи, лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, В-клеточной лимфомы, Т-клеточной лимфомы, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы, волосатоклеточной лимфомы, гистиоцитарной лимфомы, а также лимфомы Бёркитта, острых и хронических миелогенных лейкозов, миелодиспластического синдрома, миелоидного лейкоза, промиелоцитарного лейкоза, астроцитомы, нейробластомы, глиомы, неврином, фибросаркомы, рабдомиосаркомы, остеосаркомы, ксероидермы пигментной, кератоакантомы, семиномы, фолликулярного рака щитовидной железы, тератокарциномы и раковых заболеваний желудочно-кишечного тракта или брюшной полости и таза.

В некоторых вариантах реализации субъект страдает от радиационно-индуцированного повреждения. В дополнительном варианте реализации субъект подвергнулся летальной дозе радиации. В еще одном дополнительном варианте реализации субъект проходит лечение радиацией. В другом варианте реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят перед воздействием радиации. В еще одном варианте реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят во время воздействия радиации. В еще одном варианте реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят после воздействия радиации.

В некоторых вариантах реализации субъект страдает от реперфузионного повреждения. В дополнительном варианте реализации реперфузия вызвана повреждением. В дополнительном варианте реализа-

ции повреждение представляет собой ишемию или гипоксию. В дополнительном варианте реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят перед притоком кислорода. В дополнительном варианте реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят во время притока кислорода. В дополнительном варианте реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят после притока кислорода.

В различных вариантах реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят в сочетании с другими лекарственными средствами и/или способами лечения. В дополнительном варианте реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят в сочетании с химиотерапией. В дополнительном варианте реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят с лучевой терапией. В дополнительном варианте реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят в сочетании с антиоксидантом. В дополнительном варианте реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят в сочетании с амифостином и/или витамином Е. В некоторых вариантах реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят перед применением других лекарственных средств и/или способов лечения. В дополнительных вариантах реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят одновременно с другими лекарственными средствами и/или способами лечения. В еще одних дополнительных вариантах реализации композицию, относящуюся к флагеллину, вводят после других лекарственных средств и/или способов лечения.

В одном из аспектов согласно настоящему изобретению предложен способ лечения рака, включающий введение композиции, относящейся к флагеллину, согласно настоящему изобретению субъекту, который в этом нуждается.

В одном из аспектов согласно настоящему изобретению предложен способ лечения радиационно-индуцированного повреждения, включающий введение композиции, относящейся к флагеллину, согласно настоящему изобретению субъекту, который в этом нуждается.

В одном из аспектов согласно настоящему изобретению предложен способ лечения реперфузионного повреждения, включающий введение композиции, относящейся к флагеллину, согласно настоящему изобретению субъекту, который в этом нуждается.

Детали изобретения изложены в прилагаемом описании ниже. Хотя способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, можно использовать при практическом выполнении или тестировании настоящего изобретения, сейчас будут описаны иллюстративные способы и материалы. Другие признаки, цели и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из описания и из формулы изобретения. В описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают также формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют такое же значение, которое обычно понимается средним специалистом в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1А и 1В показаны 13 консервативных аминокислот флагеллина, которые могут быть важными для активности TLR5. На фиг. 1А и 1В показан сравнительный анализ аминокислотных последовательностей консервативных аминоконцов (фиг. 1А) и карбоксиконцов (фиг. 1В) из 21 вида бактерий. 13 консервативных аминокислот, важных для активности TLR5, затемнены. Аминокислотные последовательности идентифицированы по их номерам доступа в базе TrEMBL (первая буква = Q) или Swiss-Prot (первая буква = P).

На фиг. 2 показаны ранние данные анализа соотношения структура-активность (SAR), отражающего вклад отдельных сегментов и целых доменов CBLB502 в эффективность связывания и активации сигнализации. Относительные значения аффинности связывания и активации сигнализации получали с использованием, соответственно, биохимического анализа флуоресцентный поляризацией (ФП) и анализа на клетках репортерного гена и проводили нормализацию по CBLB502. Анализы осуществляли для серии мутаций в пределах прогнозируемых первичной и вторичной пограничных поверхностей димеризации (А), а также для делеции более крупных сегментов или целых доменов D0 или D1 (В), как показано в виде схем сверху графика. На фиг. 3 показаны структурные области, участвующие во взаимодействии между эктодоменом TLR5 и доменом D1 белка CBLB502 (FliC). Обратите внимание на вклад петель LRR 7 и 9 (характерных для семейства TLR5) в высокоаффинные первичные взаимодействия.

На фиг. 4 в областях А-Е показана эффективность активации сигнализации у мутантов CBLB502 у мышей с репортерным геном люциферазы под контролем NF-κB. Графики показывают активность люциферазы под контролем NF-κB у репортерных мышей после подкожного введения конструкций (А) CBLB502, (В) DIM2, (С) DIM1, (D) PIM и (Е) SY3. Активность измеряли в печени, селезенке, толстой кишке и мочевом пузыре мышей.

На фиг. 5 показана итеративная минимизация композиции, относящейся к флагеллину, CBLB502. Конструкции S33 и 33ML сохраняют практически полную сигнальную активность *in vitro*. На схематические изображения показывают доменную организацию, включая спейсер и метку.

На фиг. 6 в областях А и В показано, что минимизированный вариант CBLB502-S33 демонстрирует, по существу, более высокую сигнальную активность *in vivo* по сравнению с CBLB502. Репортерным

мышам с люциферазным геном под контролем NF-κB вводили подкожно (п/к) 0,1 мкг CBLB502 (А) или S33 (В) и получали изображение спустя 3 ч. Результаты измерений в отдельных органах показаны на фиг. 4.

На фиг. 7 в областях А-Н показано, что минимизированный вариант CBLB502-S33 демонстрирует, по существу, более высокую сигнальную активность *in vivo* по сравнению с CBLB502, и эффект был особенно выражен в мочевом пузыре и толстой кишке. Устанавливали эффективность активации сигнализации белками CBLB502 и CBLB502-S33 у репортерных мышей с геном люциферазы под контролем NF-κB (п/к инъекция указанных доз и сбор органов спустя 3 ч) путем анализа люциферазной активности в собранных органах.

На фиг. 8 в областях А и В показано, что минимизированный вариант CBLB502-S33 демонстрирует большую активность в отношении защиты против облучения летальными дозами у мышей по сравнению с CBLB502. Область А. На графике Каплана-Мейера показана динамика выживаемости у мышей линии C57/BL6, которым провели инъекцию CBLB502 или CBLB502-S33 за 30 мин перед тотальным облучением тела дозой 9,5 Гр (по сравнению с контролем плацебо). Область В. Дозозависимость при 30-дневной выживаемости (%).

На фиг. 9 показано, что более высокая сигнальная активность и радиопротекторная активность CBLB502-S33 коррелирует с более интенсивной выработкой цитокинов (анализ фармакодинамики (ФД)) у мышей по сравнению с CBLB502, включая существенные для механизма биомаркеры Г-КСФ и ИЛ-6. Мышам вводили 1 или 2 мкг/кг белка CBLB502 или S33.

На фиг. 10 показано, что минимизированный вариант CBLB502-S33 демонстрирует лучшую фармакокинетику (ФК) (более высокие уровни в плазме) у мышей по сравнению с CBLB502.

На фиг. 11 показана супрессия люциферазной активности в лизатах печени мыши как средство измерения нейтрализации *in vivo* CBLB502 путем инъекции антисывороток и антител (нейтрализующих или не нейтрализующих) репортерным мышам (3 мыши/группа). Вводили внутривенно мышам фосфатный буферный раствор (ФБР), не нейтрализующую сыворотку человека, нейтрализующую сыворотку (D15), не нейтрализующее моноклональное антитело (MAT) 7C или нейтрализующее моноклональное антитело (MAT) 11D. Спустя час вводили подкожно конструкцию CBLB502. Величину люциферазной активности измеряли спустя три часа после введения CBLB502. Образцы сыворотки мышей собирали перед введением CBLB502. Сыворотки крови человека разбавляли в 10 раз ФБР для инъекций. Оба моноклональных антитела, 7C и 11D, вводили в концентрации 2 мг/мл в ФБР.

На фиг. 12 в областях А и В показаны схематические диаграммы конструкций (А) 445 (SEQ ID NO: 54) и (В) 467 (SEQ ID NO: 62).

На фиг. 13 в областях А-С показаны примеры прогнозируемых без ограничения теорией структурных эпитопов, использованных для разработки производных CBLB502.

На фиг. 14 показано, что конструкция CBLB502-33MX демонстрирует существенную элиминацию нейтрализующей антигенности. На графике показан профиль CBLB502-33MX по сравнению с CBLB502 и его укороченным вариантом CBLB502-ML на панели сывороток крови человека с измеряемым титром нейтрализующих CBLB502 антител.

На фиг. 15 показан количественный анализ CBLB502 и CBLB502-33MX в образцах плазмы мыши. НПКО - ниже предела количественного определения. В области А показаны исходные данные, тогда как в области В показано графическое представление данных в области А. CBLB502-33MX имеет очень похожие ФК свойства, как и родительский белок CBLB502, т.е. он выводится из кровотока приблизительно с той же скоростью.

На фиг. 16 показаны профили цитокинов для анализа ФД свойств CBLB502-33MX по сравнению с CBLB502. CBLB502-33MX имеет очень схожий ФД профиль с родительским белком CBLB502.

На фиг. 17 показана люциферазная активность в органах мыши после лечения CBLB502, CBLB502-S33 и CBLB502-33MX.

На фиг. 18 показана шкала оценки повреждений для диапазона доз 33MX по сравнению с дозой CBLB502.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение основано, в частности, на открытии определенных мутаций флагеллина, которые улучшают фармакологически значимые свойства данных биологических и родственных средств. Подобные мутации дают разнообразные композиции, относящиеся к флагеллину, которые в качестве неограничивающего примера имеют измененную антигенность и иммуногенность относительно композиций без мутаций. Композиции, относящиеся к флагеллину, сохраняют способность активировать сигнальный путь TLR5 на том же или похожем уровне, как композиция, относящаяся к полноразмерному флагеллину.

Композиции, относящиеся к флагеллину.

Настоящее изобретение основано, в частности, на открытии, что минимизированные конструкции композиций, относящихся к флагеллину, могут демонстрировать сниженную иммуногенность, вместе с тем все еще сохраняя способность активировать сигнальный путь TLR5 на том же или похожем уровне,

как композиция, относящаяся к полноразмерному флагеллину. Сниженная иммуногенность позволяет конструкции оставаться в организме хозяина дольше, чем композиции, относящиеся к полноразмерному флагеллину. Вполне возможно удалить по меньшей мере половину эндогенного сегмента C_D0, оставляя только его N-концевую половину (470-485), кэпированную C-концевой His-меткой, и все еще сохранить большую часть способности молекулы активировать путь сигнализации TLR5. Наличие кэпа может быть существенным для осуществления активности, так как вариант 33-485 теряет приблизительно 90% сигнальной активности. Эти наблюдения в совокупности предполагают, что домен D_0 вносит только незначительный (если вообще какой-либо) вклад в прямые взаимодействия с TLR5, и его роль может быть ограничена поддержанием структурной целостности домена D1. Напротив, оставшийся сегмент C_D0 (470-485) не может быть удален или заменен C-концевой половиной C_D0 (485-504) или другими последовательностями.

В различных вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложены композиции, относящиеся к флагеллину. В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложены композиции, относящиеся к флагеллину, которые имеют (1) улучшенные фармакологические свойства, включая сниженную антигенность и иммуногенность, что, например, позволяет применять их при широком спектре различных болезненных состояний и типов пациентов, и/или (2) улучшенные функциональные свойства, что, например, обеспечивает улучшенное медицинское воздействие.

Композиции, относящиеся к флагеллину, могут представлять собой полипептид, относящийся к флагеллину. Композиции, относящиеся к флагеллину, могут быть из разных источников, включая разнообразные грамположительные и грамотрицательные бактериальные виды. В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, могут иметь аминокислотную последовательность, которая получена из любого флагеллина, полученного от бактериальных видов, описанных на фиг. 7 в публикации патента США № 2003/0044429, содержание которой, таким образом, включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Композиции, относящиеся к флагеллину, могут представлять собой полипептиды, относящиеся к флагеллину, перечисленные на фиг. 7 в публикации патента США № 2003/0044429, которые находятся в открытом доступе в источниках, включая базу данных Genbank NCBI. Композиции, относящиеся к флагеллину, могут представлять собой основной компонент бактериального жгутика. Композиции, относящиеся к флагеллину, могут состоять из одного, или двух, или трех, или четырех, или пяти, или шести доменов или их фрагментов (см., например, фиг. 10 в патенте США № 8324163, полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки). Домены могут быть выбраны из доменов ND0, ND1, ND2, D3, CD2, CD1 и CD0. Домены 0 (D0), 1 (D1) и 2 (D2) могут быть прерывистыми и могут образовываться при расположении остатков N-конца или C-конца бок о бок друг с другом с образованием шпильчатой структуры. N- и C-конец, содержащие домены D1 и D2, могут являться наиболее консервативными, тогда как средний гипервариабельный домен (D3) может быть высоковариабельным. Неконсервативный домен D3 может находиться на поверхности жгутикового филамента и может содержать основные антигенные эпитопы. Мощная провоспалительная активность флагеллина может располагаться в высококонсервативных областях ND1, ND2, CD1 и CD2.

Композиции, относящиеся к флагеллину, могут быть получены из вида *Salmonella*, типичными примерами которого являются *S. typhimurium* и *S. dublin* (кодируемые последовательностью с учетным номером GenBank M84972). Полипептид, относящийся к флагеллину, может представлять собой фрагмент, вариант, аналог, гомолог или производное флагеллина дикого типа (SEQ ID NO: 1) или их комбинацию. Фрагмент, вариант, аналог, гомолог или производное флагеллина можно получить путем рационального дизайна на основе доменной структуры флагеллина и консервативной структуры, распознаваемой TLR5.

Композиции, относящиеся к флагеллину, могут относиться к полипептиду флагеллина из любого грамположительного или грамотрицательного бактериального вида, включая полипептиды флагеллина, описанные в публикации патента США № 2003/000044429, содержание которого включено в данный документ, и пептиды флагеллина, соответствующие учетным номерам, перечисленным в результатах BLAST, показанных на фиг. 7 (области A-F) в публикации патента США № 2003/000044429, или их варианты, но не ограничиваясь только ими.

Без ограничения теорией, флагеллин и описанные ранее варианты страдают по большей части от высокой антигенности и иммуногенности, потому что они по природе являются иммуногенными бактериальными белками (например, флагеллин или "FlhC"). Практическое ограничение в ранее существующих конструкциях флагеллина состоит в том, что многие субъекты имеют высокие титры предсуществующих антител, способных нейтрализовать стимулирующую TLR5 активность этих конструкций. Эти индивидуумы будут десенсибилизированы (или полностью устойчивы) к лечению средствами, полученными из флагеллина, иногда даже в случае однократных инъекций и, без ограничения теорией, более вероятно при повторном лечении. Кроме того, титр подобных предсуществующих антител, даже если первоначально существовал на низких уровнях, может быть быстро простимулирован однократной инъекцией средства, полученного из флагеллина, таким образом дискредитируя еще большую группу индивидуумов для цели применения режима с многократными дозами, как заложено в проекте для медицинского применения. Широко распространенные предсуществующие анти-FlhC антитела (включая нейтрализующие

антитела) в популяции, вероятно, отражают воздействие в течение всей жизни на человечество многочисленных видов жгутиковых энтеробактерий (например, *Salmonella* spp., *E. coli*), колонизирующих (или инфицирующих) человеческое тело. В некоторых вариантах реализации описываемые в настоящем изобретении композиции, относящиеся к флагеллину, содержат изменения эпитопов для различных антител, нейтрализующих активность флагеллина.

В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит мутации в эпитопах, распознаваемых нейтрализующими анти-CBLB502 антителами. Композиции, относящиеся к флагеллину, могут содержать одну или более мутаций в эпитопах, распознаваемых нейтрализующими анти-CBLB502 антителами, которые ингибируют или аннулируют способность антител нейтрализовать композицию. В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит укороченный один или несколько эпитопов и мутации в одном или более эпитопах. В дополнительном варианте реализации мутации содержат замену остатков эпитопа аланином. В дополнительном варианте реализации мутировавшие эпитопы содержат один или более следующих остатков: E153, S444, T154, N440, Q142, F131, D443, N68, T447, S110, Q117, R124, D113, E120, N127 и Q128. Композиции, относящиеся к флагеллину, могут содержать вставки, делеции, вставки транспозонов и изменения в любом из доменов D0, D1, D2 и вариабельного домена D3. Домен D3 может быть заменен частично или полностью шарнирным участком или линкерным полипептидом, что позволяет доменам D1 и D2 сворачиваться подходящим образом, так что вариант белка стимулирует активность TLR5. В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к разработке минимального функционирующего ядра флагеллина, например удаляя остатки, относящиеся к уже укороченной молекуле CBLB502. В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к разработке композиции, относящейся к флагеллину, которая имеет измененную аминокислотную идентичность по сравнению с диким типом, включая делеции, вставки и замены, которые обеспечивают улучшенную активность. В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, получена из CBLB502 (SEQ ID NO: 2). В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит укороченный один или более домены. В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит делецию в N-концевом домене. В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит делецию в домене ND0. В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит делецию всего домена ND0. В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит делецию в C-концевом домене. В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит делецию в домене CD0. В еще одном дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, сохраняет аминокислоты в положениях 470-485 домена CD0. В еще одном дополнительном варианте реализации минимизированная композиция, относящаяся к флагеллину, представляет собой CBLB502-S33 (SEQ ID NO: 17). Композиции, относящиеся к флагеллину, могут содержать по меньшей мере 10, 11, 12 или 13 аминокислот из 13 консервативных аминокислот, показанных на фиг. 1A и 1B (положения 89, 90, 91, 95, 98, 101, 115, 422, 423, 426, 431, 436 и 452). Композиции, относящиеся к флагеллину, могут быть по меньшей мере на 30-99% идентичны аминокислотам в положениях 1-174 и 418-505 последовательности SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, имеют улучшенные функциональные и фармакологические свойства, которые, например, обеспечивают улучшенное медицинское воздействие. В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, имеют улучшенную активацию NF-κB и радиопротективную активность по сравнению с CBLB502. В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, имеют улучшенную фармакокинетику, что приводит к пропорционально более сильному фармакодинамическому ответу (как определено, например, с помощью анализов цитокинов).

В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, имеют улучшенные фармакологические свойства, включая сниженную антигенность и иммуногенность, что, например, позволяет применять их при широком спектре разнообразных болезненных состояний и типов пациентов. Сниженная антигенность и иммуногенность расширяет применения с медицинскими целями, для которых могут быть использованы композиции, относящиеся к флагеллину, согласно настоящему изобретению, включая, например, применения с медицинскими целями, требующие повторяющихся введений лекарственного препарата. В некоторых вариантах реализации сниженная антигенность преобразовывается в улучшенную устойчивость по отношению к нейтрализующему действию предшествующих антител (например, анти-флагеллин антител), а также антител, индуцируемых в ответ на инъекцию CBLB502. В дополнительных вариантах реализации композиции, имеющие отношение к флагеллину, имеют увеличенные значения времени задержки *in vivo*. Увеличенное время задержки в организме позволяет композиции быть эффективной при меньшем количестве доз или при более длительных перерывах между введениями доз.

В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит метку. В еще одном дополнительном варианте реализации метка прикреплена к N-концу композиции, относящейся к флагеллину. В еще одном дополнительном варианте реализации метка прикреплена к C-концу композиции, относящейся к флагеллину. В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагел-

лину, содержит гибкий линкер. В дополнительном варианте реализации гибкий линкер содержит последовательность SEQ ID NO: 16. В еще одном дополнительном варианте реализации гибкий линкер содержит последовательность SEQ ID NO: 242. В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит или состоит из любого из полипептидов или нуклеиновых кислот, кодируемых указанными полипептидами, перечисленными в табл. 1. В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, кодируется нуклеотидными последовательностями, перечисленными в табл. 1. В дополнительном варианте реализации композиция, относящаяся к флагеллину, содержит полипептиды, перечисленные в табл. 1. В некоторых вариантах реализации композиций, относящиеся к флагеллину, содержат или состоят из полипептидов, кодируемых последовательностью SEQ ID NO: 69 или последовательностью SEQ ID NO: 70. В некоторых вариантах реализации композиций, относящиеся к флагеллину, содержат или состоят из полипептидов с последовательностью SEQ ID NO: 71, "CBLB543". В некоторых вариантах реализации композиций, относящиеся к флагеллину, содержат или состоят из полипептидов, кодируемых последовательностью SEQ ID NO: 149 или последовательностью SEQ ID NO: 151. В некоторых вариантах реализации композиций, относящиеся к флагеллину, содержат или состоят из полипептидов с последовательностью SEQ ID NO: 150, "CBLB533". В некоторых вариантах реализации композиций, относящиеся к флагеллину, могут быть по меньшей мере на 30-99% идентичны последовательностям, перечисленным в табл. 1, например приблизительно на 50%, или приблизительно на 60%, или приблизительно на 70%, или приблизительно на 80%, или приблизительно на 90%, или приблизительно на 95%, или приблизительно на 97%, или приблизительно на 98%, или приблизительно на 99% или приблизительно на 100% идентичны последовательностям, перечисленным в табл. 1.

Таблица 1

Иллюстративные флагеллиновые композиции

SEQ ID	Название конструкции	ДНК/ PRT	Вид	Последовательность
0001	Дикий тип	PRT	Salmonella dublin	MAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLT QASRNANDGISAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDSLKSQDEIQRLEEID RVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVQANDGETITIDLQKIDVKSLGLDGFNVNPKVKEATVG DLKSSFKNVTGYDTYAAGADKYRVDINSGAVVTDAAAPDKVYVNAANGQLTDDAENNTA VDFKTTKSTAGTAEAKAIAAGAIKGGKEGDTFDYKGVFTTIDTKGDDGNGKVVSTTINGEKV TLTVADIATGAADVNAATLQSSKNVYTSVNGQFTFDDKTKNESAKLSDLEANNVAVKGES KITVNGAEYTANATGDKITLAGKTMFIDKTASGVSTLINEDAAAANKSTANPLASIDSALS DAVRSSLGAIQNRFDASAITNLGNTVNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVL AQANQVPQNVLSLLR
0002	CBLB502	PRT	Искусственная последовательность	MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLS SSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISAQTTEGALNEINNN LQRVRELSVQATNGTNSDSLKSQDEIQRLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQV GANDGETITIDLQKIDVKSLGLDGFNVNNSPGISGGGGGILDSMGTLINEEDAAAANKSTANPL ASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASAITNLGNTVNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQI LQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR
0003	Промотор T7 (прямой)	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGG
0004	ФиС AA74-80 (прямой)	ДНК	Искусственная последовательность	ATTGCGCAGACCACTGAAGG
0005	Сайт расщепления тромбина	PRT	Искусственная последовательность	LVPRGS
0006	Сайт расщепления энтерокиназы		Искусственная последовательность	DDDDK
0007	NS (N-концевая)	PRT	Искусственная	SSGLRINSAKDDA

	область спицы; Ser32 – Ala44)		последовательность	
0008	CS (С-концевая область спицы; от Glu464 по Ala469)	PRT	Искусственная последовательность	EDADYA
0009	линкер	PRT	Искусственная последовательность	AASAGAGQGGGGSG
0010	линкер	PRT	Искусственная последовательность	EGKSSGSGSESKST
0011	линкер	PRT	Искусственная последовательность	GGGRTSSSAASAGAGQGGGGSG
0012	линкер	PRT	Искусственная последовательность	GPSG
0013	линкер	PRT	Искусственная последовательность	GSAGSAAGSGEF
0014	линкер	PRT	Искусственная последовательность	GSPG
0015	линкер	PRT	Искусственная последовательность	KESGSVSSEQLAQFRSLD
0016	линкер	PRT	Искусственная последовательность	SPGISGGGGGILDSMG
0017	Мутант 33-485 Мутант S33	PRT	Искусственная последовательность	MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDLVPRGSAKDPGSLRINSKDDAAGQAIANRF TSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEI QQRLEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSGLDGFNVNS PGISGGGGGILDSMGLINEDAAAANKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSAIT NLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR
0018	Мутант 33-485	ДНК	Искусственная	GCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTTGATAATCTGGCGCAGGCTAACCCAGG
	Прямой праймер CBLB485		последовательность	
0019	Мутант 33-485 матричная последовательность 502	ДНК	Искусственная последовательность	TCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCCAG GTT
0020	Мутант 33-485 Обратный праймер CBLB485	ДНК	Искусственная последовательность	CCTGGTTAGCCTGCGCCAGATTATCAACCAGCCTGCTGCAGAATCTGC
0021	Мутант 33-485 ДНК- последовательность мутанта 485 (от промотора T7 до стоп-кодона)	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGCGGGTTCTCATCATCATCATCATG GTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAAATGGGTGCGGATCTGTACGACCTGGTTC CGCGCGGTAGCGCAAGGATCCGTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGCAAAGACGAT GCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAG GCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTG AATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTGAGCAACGCTGGA GGACTAATCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGA AGAAATCGATCGGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGG ACAACCAGATGAAAATCCAGTTGGTGTACGATGGTAAACCATTACCATCGATCT GCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATTCCTCCGGGA ATTTCCGGTGGTGGTGGTGAATTCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACG CTGCCGAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTC AAAAGTGGACGAGTTCGTTCTTCTGCGGGCAATCAAAAACGTTTTGATTAGCC ATTACCAACCTTGGCAATACGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAG ATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGC TGTTGATAA
0022	Мутант 33-485	PRT	Искусственная	MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDLVPRGSAKDPGSLRINSKDDAAGQAIANRF

	Экспрессируемый мутант 33-485		последовательность	TSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEI QQRLEIIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSGLDGFNVNS PGISGGGGILDMSGTLINEDAAAAKKSTANPLASIDSALSJKVDVAVRSSLGAIQNRFD SAITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAG
0023	Мутант 45СТ Мутант 506Т	PRT	Искусственная последовательность	MAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLSAIERLSSGLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLT QASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQQRLEEI D RVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSGLDGFNVNSPGISGGG GGILDMSGTLINEDAAAAKKSTANPLASIDSALSJKVDVAVRSSLGAIQNRFD SAITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHHHHHH GMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDP
0024	Мутант 45СТ Мутант 506Т	ДНК	Искусственная последовательность	ATGGCACAAGTCATTAATACAACAGCCTGTCGCTGTTGACCCAGAATAACCTGAACA AATCTCAGTCCTCACTGAGTTCGGCTATTGAGCGTCTGCTCCTGGTCTGCGTATCAA CAGCGCGAAGACGATGCGGCAGGCCAGCGATTGCTAACCGCTCACTTCTAATAT CAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACC ACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCT GTTCAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAA TTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGT AAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTCTAACGATGGTGAAA CCATTACCATCGATCGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAAT GTTAATTCGGGGAATTCGGTGTGGTGGTGAATCTAGACTCCATGGGTACAT TAATCAATGAAGACGCTGCCGACGCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAAT TGATTCTGCATTGCAAAAGTGGACGCAGTTCTTCTCTGGGGGCAATTCAAAAC CGTTTGTGACTCAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAATCCGCGC GTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTCTAATATGTCTAAAGCGCA GATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCCAGTTCCGCAAAA CGTCTCTCTTTACTGGTTCGGCGGGTCTCATCATCATCATCATGATGGCTA GCATGACTGGTGACGCAAAATGGGTGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATC CGTAAGTCGACAAGCTTGCG
0025	Мутант 45СТ Прямой F45СТ	ДНК	Искусственная последовательность	CGAAAGACCATATGGCAGGCCAGGCGATTGC
0026	Мутант 45СТ Обратный R45СТ	ДНК	Искусственная последовательность	CGCAAGCTTGTGACTTACGGATCCTTATCGTC
0027	Мутант 45СТ Последовательность в конструкции 45СТ	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCTCTAGAAATAATT TTGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTT CACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCT ATTGCGCAGACCCTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTG CGTGAGTTGTCTGTTCAAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTA TCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCA ATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGT AACGATGGTGAACCATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCC TTGATGGGTTCAATGTTAATTCGGGGAATTCGGTGTGGTGGTGAATCTAG CTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGACGCAAGAAAAGTACCGCTAAC CCTGCTTCAATGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCAGTTCCGTTCTTCTCTGG GGCAATTCAAAACCGCTTTGATTGAGCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAA TCTGAACCTCCGCGCTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAAT ATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAAC CAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTTTACTGGTTCGGCGGGTCTCATCATCATCATC ATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGACGCAAAATGGGTGGGATCTGTACGACG ATGACGATAAGGATCCGTAAGTCGAC
0028	Мутант 45СТ Экспрессируемый мутант 45СТ	PRT	Искусственная последовательность	MAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRELSVQATNGTNS DSLKSIQDEIQQRLEIIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVKS LGLDGFNVNSPGISGGGGILDMSGTLINEDAAAAKKSTANPLASIDSALSJKVDVAVRSSLG AIQNRFD SAITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQ NVLSLLVPRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDDDDKDP

0029	Мутант 33GPS Экспрессируемый мутант 33ML	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTACAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCT GAAATCTATCGGACCATCAGGTCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCGAAGAAATCGAT CGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACCAGAT GAAAATCCAGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCATACCATCGATCTGCAAAAAATT GATGTGAAAAGCCTTGGCCCTGATGGGTTCAATGTTAATCCCGGGAAGTACCGCTA ACCCACTGGCTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAGTGGACGAGTTCGTTCTTCTCTG GGGGCAATTCAAACCGCTTTGATTGAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCA ATCTGAACTCCGCGCTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAAGTTTCTAA TATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGAGGCTAAC CAGGTTCCGCAAAACGCTCTCTTTACTGGTTCGCGGGGTTCTCATCATCATCATC ATCATGGTTAA
0030	Мутант 33GPS Экспрессируемый мутант 33ML	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLRVRE LSVQATNGTNSDSLKISIGPSGQDEIQRLLEEIDRVSNQTQFNQVKVLSQDNQMKIQVGA NDGETITIDLKIDVKSLGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFD SAINLGNVTNLSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPR GSHHHHHHG
0031	Мутант 33GPS Прямой праймер FSY3CT	ДНК	Искусственная последовательность	GATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAG
0032	Мутант 33GPS Обратный праймер RMIMxN	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTCCCGGGGAATTAACATTGAACCC
0033	Мутант 33GPS ДНК-	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA
	последовательность мутанта 33GPS			GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAGGCCAC TGGACCATCAGGTGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAG ACTCAATTAACGGGTGTTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAAGATGAAATCCAGGTTG GTGCTAACGATGGTGAACCAATACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTT GGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCAGGAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAA TTGATTCTGCATTGTCAAAAGTGGACGCAAGTTCGTTCTTCTGGGGCAATCAAAA CCGCTTTGATTGAGCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCG CGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGC AGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACAGGTTCCGCAAA ACGTCCTCTTTACTGGTTCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGTTAAGTC GAC
0034	Мутант 33GPS Экспрессируемый мутант 33GPS	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLRVRE LSVQATGPSGEIQRLLEEIDRVSNQTQFNQVKVLSQDNQMKIQVANDGETITIDLKIDV KSLGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFD SAINLGNVTNLSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHHHHHHG
0035	Мутант 33ML Мутант 33СТ (исправленный А)	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLRVRE LSVQATNGTNSDSLKISIQDEIQRLLEEIDRVSNQTQFNQVKVLSQDNQMKIQVANDGE TITIDLKIDVKSLGLDGFVNSPGISGGGGILDSMGLINEDAAAAKKSTANPLASIDSAL SKVDAVRSSLGAIQNRFD SAINLGNVTNLSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGT SVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHHHHHHG
0036	Мутант 33ML Мутант 33СТ (исправленный А)	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTACAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCT GAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAAT

				CAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAAAATCCAGG TTGGTGCTAACGATGGTGAACCATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAG CCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCCTGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGGA ATTCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGACGCCAAGAAAAAGTA CCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAGTGACGCGATTCGTTT TTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTGGCAATACG GTAACCAATCTGAACTCCGCGGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAA GTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGC AGGCTAACAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTCTTTACTGGTTCGCGGGGTTCTCATCA TCATCATCATCATGGTTAA
0037	Мутант 33ML Прямой праймер F502ML	ДНК	Искусственная последовательность	TCTAGACCCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTG
0038	Мутант 33ML Обратный праймер R33CT	ДНК	Искусственная последовательность	CCAGTCATGTCGACTTAACCATGATGATGATGATGATGAG
0039	Мутант 33ML матричная последовательность 502	ДНК	Искусственная последовательность	CTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGACAAGCTTCGCGCCGAGAGCTCGC
0040	Мутант 33ML Конструкция 33ML	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTTCAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCTGTC
				TCAGGACAACCAGATGAAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCACTTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATTCCTCC GGGAAGTACCCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAGTGACGCA GTTCTGTTCTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGAAATTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTT CTGGCGCAGGCTAACAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTCTTTACTGGTTCGCGGGGGT TCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0041	Мутант 33ML Экспрессируемый мутант 33ML	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGCTGTTTCAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCT GAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAAT CAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAAAATCCAGG TTGGTGCTAACGATGGTGAACCATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAG CCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCCTGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCT TCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAGTGACGCGAGTTCTGTTCTCTGCGGGCAATTC AAACCGCTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCC GCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAATTTCTAATATGTCTAAAG CGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACAGGTTCCGC AAAACGTCCTCTTTACTGGTTCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATCATGGTTAA
0042	Мутант 33ML Мутант 33ML	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLKIDVKSLGLDGFNVNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLG NTVTNLNARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0043	Мутант 37CT	ДНК	Искусственная	ATGGCACAAGTCATTAATACAACAGCCTGTCGCTGTTGACCAGAATAACCTGAACA

	Мутант с дельта ND0 на основе CBLB506T		последовательность	AATCTCAGTCCCTACTGAGTTCGCTATTGAGCGTCTGCCTCTGGTCTGCGTATCAA CGGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATAT CAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGCGCATTTCTATTGCGCAGACC ACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCT GTTCCAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAA TTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGT AAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAAATCCAGGTTGGTCTAACGATGGTGAAA CCATTACCATCGATCTGCAAAAAATTTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTCAAT GTTAATCCCCGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGTGAATTCTAGACTCCATGGGTACAT TAATCAATGAAGACGCTGCCGAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAAT TGATTCGCATTGTCAAAGTGGACGCGATTGTTCTCTCTGGGGCAATTCAAAAAC CGCTTTGATTACGCCATTACCAACCTTGGCAATACGTAACCAATCTGAACCTCCGCGC GTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCA GATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCCAGGTTCCGCAAAA CGTCTCTCTTTACTGGTTCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGATGATGGCTA GCATGACTGGTGACAGCAAAATGGGTGCGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATC CGTAAGTCGACAAGCTTGCG
0044	Мутант 37СТ Мутант с дельта ND0 на основе CBLB506T	PRT	Искусственная последовательность	MAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSLSAIERLSSGLRINGAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLT QASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEEID RVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVANDGETITIDLQKIDVKSGLDGFVNNSPGISGGG GGILDSMGTLINEAAAAKKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLGNTVT NLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHHHHHH GMASMTGGQMQGRDLYDDDDKDP
0045	Мутант 37СТ Прямой F37СТ	ДНК	Искусственная последовательность	CTCTGGTCATATGATCAACAGCGCGAAAGACGATGC
0046	Мутант 37СТ Обратный R37СТ	ДНК	Искусственная последовательность	TCTAGAGTCGACTATTAAGCCATACCATGATGATGATGATGATGATGAG
0047	Мутант 37СТ Конструкция 37СТ	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCTCTAGAAATAATT TTGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGC AGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCC CGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGTGCGCTGAATGAAA TCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAA CTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACCTCTGGAAGAAATC GATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTCTCAGGACAACCA GATGAAAAATCCAGGTTGGTGTAAACGATGGTGAACCATACCATCGATCTGCAAAAA ATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTCAATGTTAATTCCTCCGGGAATTTCCG GTGGTGGTGGTGAATTTCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGC AGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTG GACGCAGTTGGTCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTACGCCATTACCA ACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGA CTATGCAACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACT TCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCCAGGTTCCGCAAAACGCTCTCTTTACTGGTTCCGC GGGGTTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTTAATAGTCGAC
0048	Мутант 37СТ Мутант 37СТ	PRT	Искусственная последовательность	MINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRRELSVQ ATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVANDGETITIDL LQKIDVKSGLDGFVNNSPGISGGGGILDSMGTLINEAAAAKKSTANPLASIDSALSKV DAVRSSLGAIQNRFDASITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLA QANQVPQNVLSLLVPRGSHHHHHHGMMA
0049	Мутант 445 502-SY1	PRT	Искусственная последовательность	MRGSHHHHHHGMASMTGGQMQGRDLYDLVPRGSAKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKS QSSLSAIERLSSGLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALN EINNNLQVRRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQ MKIQVANDGETITIDLQKIDVKSGLDGFVNNSPGISGGGGILDSMGTLINEAAAAKKS TANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNM SKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR

0050	Мутант 445 502-SY1	ДНК	Искусственная последовательность	ATGCGGGTTTCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGC AAATGGGTCGGGATCTGTACGACCTGGTCCGCGCGGTAGCGCGAAGGATCCGATG GCACAAGTCATTAATACAAACAGCCTGTGCTGTTGACCCAGAATAACCTGAACAAT CTCAGTCCCTCACTGAGTTCGGCTATTGAGCGTCTGCTCTGGTCTGCGTATCAACAG CGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAA AGGTCTGACTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACT GAAGGTGCGTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTT AGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTC GCAACGCTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTAACGGTGTAAA GTCCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGTAAACGATGGTGAACCA TTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTAAAAGCCTTGGCTGTATGGGTCAATGTT AATTCGCCGGGAATTCGGTGGTGGTGGTGAATTCTAGACTCCATGGGTACATTA TCAATGAAGACGCTGCCGAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATTGA TTCTGCATTGTCAAAGTGACGCGAGTTCGTTCTTCTGGGGCAATCAAACCGT TTTGATTGAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTA GCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAATTTCTAATATGTCTAAGCGCAGAT TCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCCAGTTCCGCAAAACGT CCTCTCTTACTGCGTTAA
0051	Мутант 445 Прямой праймер CBLB445	ДНК	Искусственная последовательность	GGCAATTCAAAACCGTTTTGATTAAGCCATTACCAACCTTGG
0052	Мутант 445 Обратный праймер CBLB445	ДНК	Искусственная последовательность	CCAAGTTGGTAATGGCTTAATCAAACCGTTTTGAATTGCC
0053	Мутант 445 мутант 445	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGTTCATCATCATCATCATG GTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAAAATGGTCCGGATCTGTACGACCTGGTTC CGCGCGGTAGCGCGAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACAAACAGCCTGTGCG TGTGACCCAGAAATAACCTGAACAAATCTCAGTCCCTCACTGAGTTCGCTATTGACGG TCTGTCTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGAT TGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTCCCGTAACGCTAAC GACGGCATTTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACACC TGCAGCGTGTGCGTGAATTGCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATCCGA TCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATGCGGTTTCTA ATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCA GGTTGGTGTACGATGGTGAACCATACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAA AGCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCGCCGGAAATTCGCGTGGTGGTGGT GAATTCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGACGCCAAGAAAAG TACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGACGCGAGTTCGT TCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTA
0054	Мутант 445 мутант 445	PRT	Искусственная последовательность	MRGSHHHHHHGMASMTGGQMGRLDYLVPKSAKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKS QSSLSSAIERLSSGLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALN EINNNLQRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEEDRVSNQTFNGVKVLSQDNQ MKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSLGLDGFVNSPGISGGGGILDSMGLINEDAAAAKKS TANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFD
0055	Мутант 461 Прямой праймер CBLB461	ДНК	Искусственная последовательность	CAATCTGAACTCCGCGGTTGACGTATCTAAGATGCTGACTATGC
0056	Мутант 461 Обратный праймер CBLB461	ДНК	Искусственная последовательность	GCATAGTCAGCATCTTAGATACGTCAACGCGCGGAGTTCAGATTG
0057	Мутант 461 Мутант 461	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGTTCATCATCATCATCATG GTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAAAATGGTCCGGATCTGTACGACCTGGTTC

				CGCGCGGTAGCGCGAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACAACAGCCTGTGCG TGTTGACCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCCTCACTGAGTTCGGCTATTGAGCG TCTGTCTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGGGAT TGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAAC GACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACC TGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGGCCACTAACGGGACTAAGTCTGATCCGA TCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTA ATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCCAGATGAAAAATCCA GGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCATACCATCGATCTGCAAAAAATGATGTGAAA AGCCTTGGCCTGATGGGTTCAATGTTAATCCCGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGT GAATCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGACGCCAAGAAAAG TACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGAGCGCAGTTGCT TCTTCTCTGGGGCAATTCAAACCGTTTTGATTAGCCATTACCAACCTTGGCAATAC GGTAACCAATCTGAACCTCCGCGCTTACGATCTAA
0058	Мутант 461 Мутант 461	PRT	Искусственная последовательность	MRGSHHHHHHGMASMTGGQMGRLDYLVPKSAKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKS QSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALN EINNNLQVRRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEIDRVSNQTFGNVVKVLSQDNQ MKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSLGLDGFVNSPGISGGGGILDSMGLINEDAAAANKS TANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLGNTVTNLNSAR
0059	Мутант 467 Прямой праймер CBLB467	ДНК	Искусственная последовательность	CGTAGCCGTATCGAAGATGCTTAATAGGCAACGGAAGTTCTTAATATG
0060	Мутант 467 Обратный праймер CBLB467	ДНК	Искусственная последовательность	CATATTAGAAACTTCCGTTGCCTATTAAAGCATCTTCGATACGGCTACG
0061	Мутант 467 Мутант 467	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATGTGAGCGGATAACAATCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATG
				GTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAAATGGGTCCGGATCTGTACGACCTGGTTC CGCGCGGTAGCGCGAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACAACAGCCTGTGCG TGTTGACCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCCTCACTGAGTTCGGCTATTGAGCG TCTGTCTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGGGAT TGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAAC GACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACC TGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGGCCACTAACGGGACTAAGTCTGATCCGA TCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTA ATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCCAGATGAAAAATCCA GGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCATACCATCGATCTGCAAAAAATGATGTGAAA AGCCTTGGCCTGATGGGTTCAATGTTAATCCCGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGT GAATCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGACGCCAAGAAAAG TACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGAGCGCAGTTGCT TCTTCTCTGGGGCAATTCAAACCGTTTTGATTAGCCATTACCAACCTTGGCAATAC GGTAACCAATCTGAACCTCCGCGGTAGCCGTATCGAAGATGCTTAATAG
0062	Мутант 467 Мутант 467	PRT	Искусственная последовательность	MRGSHHHHHHGMASMTGGQMGRLDYLVPKSAKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKS QSSLSSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALN EINNNLQVRRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEIDRVSNQTFGNVVKVLSQDNQ MKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSLGLDGFVNSPGISGGGGILDSMGLINEDAAAANKS TANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLGNTVTNLNSARSRIEDA
0063	Мутант 470СТ CBLB502	ДНК	Искусственная последовательность	ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGACAGC AAATGGGTCGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTA TACAACAGCCTGTGCTGTTGACCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCCTCACTG AGTTCCGCTATTGAGCGTCTGTCTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGCGAAAGACGATG CGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGC TTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAAT GAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTACGGCCACTAACGGG

				ACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGGAAGA AATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACA ACCAGATGAAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCATTACCATCGATCTGCA AAAAATGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCGCCGGAAATTT CCGGTGGTGGTGGTGAATTCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGC CGCAGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAA GTGGACGCAGTTCTTCTCTGGGGCAATTCAAACCGTTTTGATTACGCCATTA CCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGGTAGCCGATCGAAGATG CTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGG TACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCCAGGTTCCGCAAAACGCTCTCTTTACTGCGT TAA
0064	Мутант 470СТ Прямой праймер F470СТ	ДНК	Искусственная последовательность	CGATAAGGATCATATGGCACAAGTCATTAATAC
0065	Мутант 470СТ Обратный праймер R470СТ	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTGTGACTTAACCATGATGATGATGATGATGATGAGAACCCCGCGGAACCAGTGCA TAGTCAGCATCTTCGATACG
0066	Мутант 470СТ Мутант 470СТ	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCGCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGGCACAAGTCATTAATACAACAGCCTGT CGCTGTTGACCCAGAATAACCTGAACAAATCTCAGTCTCAGTGAAGTCCGCTATTGA GCGTCTGTCTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGGAAAGACGATGCGGCGAGGCCAGG CGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGC TAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAAC AACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTTCAGGCCACTAACGGGACTAACCTGATT CCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGGAAGAATCGATGCGCT TTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAAA TCCAGGTTGGTGTAAACGATGGTGAACCATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGT
				GAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATTCGCCGGAAATTTCCGGTGGTGGT GGTGGAAATCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTCCCGCAGCCAAGA AAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAAGTGGACGCAGT TCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTACGCCATTACCAACCTTGGCA ATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCACT GGTTCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGTTAAGTCGAC
0067	Мутант 470СТ Мутант 470СТ	PRT	Искусственная последовательность	MAQVINTNSLSLLTQNNLNKSSLSAIERLSSGLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLT QASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQIEIQRLLEED RVSNQTFNNGVKVLSQDNQMKIQVQANDGETITIDLQKIDVKSLGLDGFVNVNSPISGGG GGILDSMGTLINEDAAAANKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSAITNLGNVT NLNSARSRIEDADYALVPRGSHHHHHHG
0068	Мутант 485СТ Обратный праймер R485MC	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTCCGCGGAACCAGACCAGCCTGCTGCAGAATCTGC
0069	Мутант 485СТ ДНК- последовательность 485СТ	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCGCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGCGGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTACAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTC TCAGGACAACCAGATGAAATCCAGTTGGTGTAAACGATGGTGAACCATTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCGCC GGAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTTCTGGGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTACGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTGATGC AACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGCTGTTCCG

				CGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0070	Мутант 485CT Мутант 485CT	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGAC GGCATTTCATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGGCCACTAACGGGACTAACCTCTGATCCGATCT GAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAAT CAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGG TTGGTGCTAACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCGCAAAAAATTGATGTGAAAAG CCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCT TCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGAGTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCA AAACCGCTTTGATTAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCC GGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAG CGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTCTGGTCCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCA TGGTTAA
0071	Мутант 485CT Мутант 485CT	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRVE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEEIDRVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKIQVGVANDGE TITIDLQKIDVKSLGLDGFNVNSPGSTANPLASIDSALSVDVAVRSSLGAIQNRFDSAITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGLVPGRSHHHHHHG
0072	Мутант 485D ДНК-матрица для делеционных мутаций, полученная от варианта мутанта 485CT	ДНК	Искусственная последовательность	AACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGAGTTCGTTCTTCTCT GGGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTCAGCCATTACCGCCCTTGGCAATACGGTAACCC AAT
0073	Мутант 485D PRT-	PRT	Искусственная последовательность	NPLASIDSALSVDVAVRSSLGAIQNRFDSAITNLGNTVTN
	последовательность для делеционных мутаций, полученная от варианта мутанта 485CT			
0074	Мутант 485D Прямой праймер F485D	ДНК	Искусственная последовательность	GTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTGATTAGCCATTACCGCCCTTG
0075	Мутант 485D Обратный праймер R485D	ДНК	Искусственная последовательность	CAAGGGCGGTAATGGCTGAATCAATTGCCCCAGAGAAGAACGAAC
0076	Мутант 485D ДНК- последовательность конструкции 485CT_Delta	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTAACGGGTGTTAAAGTCCGTG TCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGTAAACGATGGTGAACCAATTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTCTCTGGGGCAATTGATTAGCCATTACCGCCCTTGGCAATACGGTAA CCAATCTGAATCCGCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTC TAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTCTGGTCCGCGGGGTTCTCAT CATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0077	Мутант 485D	PRT	Искусственная	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRVE

	Мутант 485D (CT_Delta 439-442)		последовательность	LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLQKIDVKSGLDGFNVNSPGSTANPLASIDSALSJKVDVAVRSSLGAIDSAITALGNVT NLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGLVPRGSHHHHHHG
0078	Мутант CGD1 Мутант SY3CT	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAAGCTGATTCCGATCT GAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAAT CAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGG TTGGTGCTAACGATGGTGAACCATTACCATCGATCGCAAAAAATTGATGTGAAAAG CCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATCCCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCT TCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAAGTGACGCGAGTTCTGTTCTCTGGGGCAATTC AAACCGCTTTGATTAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCC GCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGACTGTTCCGCGGGGTTCTCATCAT CATCATCATCATGTTAA
0079	Мутант CGD1 Мутант SY3CT	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLQVRVE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLQKIDVKSGLDGFNVNSPGSTANPLASIDSALSJKVDVAVRSSLGAIQNRFDASITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYALVPRGSHHHHHHG
0080	Мутант CGD1 GFPuv4	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGTAAAGGAGAAAGAACTTTTCACTGGAGTTGTCCTCAATCTTGTGAATTAGATGG TGATGTTAATGGGCACAAATTTTCTGTCAGTGGAGAGGGTGAAGGTGATGCAACATAC GGAAAACCTACCCTTAAATTTATTTGCACTACTGGAAAACCTGTTCCATGGCCAAC ACTTGTCACTACTCTGACGTATGGTGTCAATGCTTTTCCCGTATCCGGATCATATGA AACGGCATGACTTTTTCAAGAGTGCCATGCCCGAAGGTTATGTACAGGAACGCACTAT ATCTTTCAAAGATGACGGGAACACAAGACGCGTGTGAAGTCAAGTTTGAAGGTGAT ACCCTTGTAAATCGTATCGAGTAAAAGGATTGATTTTAAAGAAGATGAAAACATCT CGGACACAAACTCGAGTACAACATAACTCACACAATGTATACATCAGGCAGACAAA CAAAAAGAAATGGAATCAAAGCTAACTTCAAATTCGCCACAACATTGAAGATGGATCCGT TCAACTAGCAGACCATTATCAACAAAATACTCCAATTGGCGATGGCCCTGTCTTTTAC CAGACAACCATTACCTGTGACACAACTGCCCCTTTGAAGATCCCAACGAAAAGCG TGACCACATGGTCTTCTTGTAGTTTGTAACTGCTGCTGGGATTACACATGGCATGGAT GAACTATACAAA
0081	Мутант CGD1 GFPuv4	PRT	Искусственная последовательность	MSKGEELFTGVVPIVLELDGVDVNGHKFSVSGEGEDATYGLTLKFICTTGKLPVWPVTLV TTLTYGVQCFSRYPDHMKRHDFFKSAMPEGYVQERTISFKDDGNYKTRAEVKFEGDTLV NRIELKIDGIDFKEDGNILGHKLEYNYNSHNVIYADKQKNGIKANFKIRHNIEDGSVQLADHY QNTPIGDPVLLPDNHVLSQALLKDPNEKRDHMLLEFVTAAGITHGMDELYK
0082	Мутант CGD1 Мутация GFPuv4 сайта NdeI дикого типа (wt)	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGTAAAGGAGAAAGAACTTTTCACTGGAGTTGTCCTCAATCTTGTGAATTAGATGG TGATGTTAATGGGCACAAATTTTCTGTCAGTGGAGAGGGTGAAGGTGATGCAACATAC GGAAAACCTACCCTTAAATTTATTTGCACTACTGGAAAACCTGTTCCATGGCCAAC ACTTGTCACTACTCTGACGTATGGTGTCAATGCTTTTCCCGTATCCGGATCATATGA AACGGCATGACTTTTTCAAGAGTGCCATGCCCGAAGGTTATGTACAGGAACGCACTAT ATCTTTCAAAGATGACGGGAACACAAGACGCGTGTGAAGTCAAGTTTGAAGGTGAT ACCCTTGTAAATCGTATCGAGTAAAAGGATTGATTTTAAAGAAGATGAAAACATCT CGGACACAAACTCGAGTACAACATAACTCACACAATGTATACATCAGGCAGACAAA CAAAAAGAAATGGAATCAAAGCTAACTTCAAATTCGCCACAACATTGAAGATGGATCCGT TCAACTAGCAGACCATTATCAACAAAATACTCCAATTGGCGATGGCCCTGTCTTTTAC CAGACAACCATTACCTGTGACACAACTGCCCCTTTGAAGATCCCAACGAAAAGCG TGACCACATGGTCTTCTTGTAGTTTGTAACTGCTGCTGGGATTACACATGGCATGGAT GAACTATACAAAATA
0083	Мутант CGD1 Прямой праймер FCGFP	ДНК	Искусственная последовательность	TCTAGACGGCCGATCTCAGGTAAGAAATGGAATCAAAGCTAACTTCAAATTCGC
0084	Мутант CGD1 Измененная PRT-	PRT	Искусственная последовательность	NVYIPISGKNGIKANFKIRH

	последовательность GFPuv4			
0085	Мутант CGD1 Обратный RCGFP	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTCCGCGGTTGTATAGTTCATCCATGCCATGTGTAATCCC
0086	Мутант CGD1 ДНК-последовательность конструкции CGD1	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCTCTGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTTCAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTAACGGGTAAAGTCCTGTC TCAGGACAACCCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCATACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTCTGCGGGCAATTCAAACCGCTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGC ACTGGTCCGCCGATCTCAGGTAAGAATGGAATCAAAGCTAACTCAAAAATCGCCAC AACATTGAAGATGGATCCGTTCAACTAGCAGACCATTATCAAAAACTCCAATTGG CGATGGCCCTGTCTTTTACCAGACAACATTACCTGTCGACACAATCTGCCCTTTTG AAAGATCCCAACGAAAAGCGTGACCACATGGTCTCTTGAAGTTGTAACCTGCTGCTG GGATTACACATGGCATGGATGAACTATACAAAACCGCGGGTTCTCATCATCATCATCA TCATGGTTAAGTCGAC
0087	Мутант CGD1 Экспрессируемый мутант CGD1	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCT GAAATCTATCCAGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCTTTCTAAT CAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACCCAGATGAAAATCCAGG TTGGTCTAACGATGGTGAACCATACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAG CCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCCTGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCT TCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCAGTTCTGTTCTCTGCGGGCAATTCA AAACCGCTTTGATTACGACCATACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCC GCGCTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCACTGGTTCGCCCGATCTCAGGTAAG AATGGAATCAAAGCTAACTCAAAAATCGCCACAACATTGAAGATGGATCCGTTCAACT AGCAGACCATATCAAAAACTCCAATTGGCGATGGCCCTGTCTTTTACCAGAC AACCATACCTGTGACACAATCTGCCCTTTTGAAGATCCCAACGAAAAGCGTGACC ACATGGTCTCTTGAAGTTGTAAGTGTGCTGGGATTACACATGGCATGGATGAACT ATACAACCGCGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTTAA
0088	Мутант CGD1 Экспрессируемый мутант CGD1	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLQRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLQKIDVKLSGLDGFVNVSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYALVPPISGKNGIKANFKIRHNIEDGSVQLADHYQQNTPIGDGPV LLPDNHLYLSTQSALLKDPNEKRDMVLEFVTAAGITHGMDELYKPRGSHHHHHHG
0089	Мутант CPM194 Мутант CPM194	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCAATTGTCAAAGTGGACGCGAG TTCGTTCTCTCTGGGGCAATTCAAACCGCTTTGATTACGCCATTACCAACCTTGGC AATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAT CCCCGGGAAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCG ATTGCTAACCGCTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAA CGACGGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAAC CTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCC GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTT CTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACCCAGATGAAAATC CAGGTTGGTCTAACGATGGTCTGGTTCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATG GTTAA

0090	Мутант СРМ194 Мутант СРМ194	PRT	Искусственная последовательность	MSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSAITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYASPGS GLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRELS VQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEEIDRVSNQTQFNQVVKVLSQDNQMKIQVGANDGLVP RGSHHHHHGG
0091	Мутант СРМ194 Мутант СРМ194	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTG ATTCTGCATTGTCAAAAGTGGACGCGAGTTCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCG CTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGCGT AGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCATCCCGGGAAGCGGTTACGGATCAACAGC GCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAA GGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCCTG AAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTCA GGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAG CAACGTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGT CCTGTCTCAGGACAACAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTCTGGTTCGG CGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGTTAAGTCGAC
0092	Мутант СРМ194 Прямой праймер FCD1	ДНК	Искусственная последовательность	TCTAGACATATGAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTG
0093	Мутант СРМ194 Обратный праймер RCD1J	ДНК	Искусственная последовательность	GCTTCCCGGGGATGCATAGTCAGCATCTTCGATACGGC
0094	Мутант СРМ194 Прямой праймер FND1J	ДНК	Искусственная последовательность	GCATCCCGGGAAGCGGTTACGGATCAACAGCG
0095	Мутант СРМ194 Обратный праймер RND1	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTCCGCGGAACAGACCATCGTTAGCACCAACCTGGATTTTCATCT
0096	Мутант СРМ217 Мутант СРМ217	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTGTGATTGTCAAAAAGTGGACGCGAG TTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTAGCCATTACCAACCTTGGC AATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAT CCCCGGGAAGCGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCG ATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAA CGACGGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAAC CTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCCAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCC GATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTT CTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAAGATGAAATTC CAGGTTGGTGTCAACGATGGTGAACCAATACCATCGATCTGCAAAAAATGATGTGA AAAGCCTTGGCCTTGTGAGTTCAATGTTAATCTGGTCCGCGGGGTTCTCATCATCA TCATCATCATGTTAA
0097	Мутант СРМ217 Мутант СРМ217	PRT	Искусственная последовательность	MSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSAITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYASPGS GLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRELS VQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEEIDRVSNQTQFNQVVKVLSQDNQMKIQVGANDGETIT IDLQKIDVKSGLDGFVNLVPRGSHHHHHHGG
0098	Мутант СРМ217 Мутант СРМ217	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTG ATTCTGCATTGTCAAAAGTGGACGCGAGTTCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCG CTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGCGT AGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCATCCCGGGAAGCGGTTACGGATCAACAGC GCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAA GGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCCTG AAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTC GGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAG CAACGTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGT

				CCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAAACCATT ACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAA TCTGGTCCCGCGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0099	Мутант CPM217 Обратный праймер RCPM217	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTCCGCGGAACCAGATTAACATTGAACCCATCAAGGCCAAG
0100	Мутант GD1G Прямой праймер FGFP77	ДНК	Искусственная последовательность	CCCGTTATCCGGATCAGATGAAAACGGCATGACTTTTTT
0101	Мутант GD1G Обратный праймер RGFP77	ДНК	Искусственная последовательность	GAAAAAGTCATGCCGTTTCATGTGATCCGGATAACGGG
0102	Мутант GD1G FGFP54	ДНК	Искусственная последовательность	CTGTTCCATGGCCAACACTTG
0103	Мутант GD1G Прямой праймер FNGFP	ДНК	Искусственная последовательность	TCTAGACATATGAGTAAAGGAGAAGAACTTTTCTACTGGAGTTGTCC
0104	Мутант GD1G Измененная ДНК- последовательность GFP	ДНК	Искусственная последовательность	GGCCTATGCGCCGCGAGTAAAGGAGAAGAACTTTTCTACTGGAGTTGTCCCAATTCCTG TTGAA
0105	Мутант GD1G Обратный RNGFP	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTATTAATGCGCCCTGATAGGCCCTGTTTGTCTGCCGTGATGTATACATTGTG
0106	Мутант GD1G Измененная PRT- последовательность GFP	PRT	Искусственная последовательность	SHNVYITADKQGLSGRNM
0107	Мутант GD1G DNA- последовательность конструкции GD1G	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGTAAAGGAGAAGAACTTTTCTACTGGAG TTGTCCCAATTCCTGTTGAATTAGATGGTATGTTAATGGGCACAAATTTTCTGTCACT GGAGAGGGTGAAGGTGATGCAACATACGAAAACTTACCCTTAAATTTATTGCACTA CTGAAAACTACCTGTTCCATGGCCAACACTTGTCACTACTCTGACGATATGGTGTTC ATGCTTTTCCCGTTATCCGGATCAGATGAAAACGGCATGACTTTTCAAGAGTGCCATG CCCGAAGGTTATGTACAGGAACGCACTATATCTTCAAAGATGACGGGAACACAAGA CGCGTGCTGAAGTCAAGTTTGAAGGTGATACCCCTGTTAATCGTATCGAGTTAAAAAGG TATTGATTTTAAAGAAGATGGAACATTTCTGGACACAACTCGAGTACAACATAACT CACACAATGTATACATCACGGCAGACAAACAAGCCCTATCAGGCCGATTAAGAGCG GGTTACGGATCAACAGCGCGAAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCCGATTGCTAACCGC TTCCTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGACGGCATTTC TATTGCGCAGACCCTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACACCTGCAGCGTGT GCGTGAGTTGTCTGTTACAGCCACTAACGGGACTAAGCTGATTCCGATCTGAAATCT ATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTC AATTTAACGGTGTTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAAATCCAGGTTGGTGC TAACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGC CTTGATGGGTTCAATGTTAATTCCCAGGAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTG ATTCTGATTGTCAAAGTGGACGAGTTCTGTTCTCTGCGGGCAATTCAAAACCG CTTTGATTACGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGT AGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCACTGGTCCGCGGATCTCAGGTAAGAATGGAA TCAAAGCTAATTCAAAATTCGCCACAACATTGAAGATGGATCCGTTCAACTAGCAGAC CATTATCAACAAAATACTCCAATTTGGCGATGGCCCTGTCTTTTACCAGACAACCATTA CCTGTGACACAATCTGCCCTTTTGAAGATCCCAACGAAAAGCGTGACCCATGATGTC GCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0108	Мутант GD1G	ДНК	Искусственная	ATGAGTAAAGGAGAAGAACTTTTCTACTGGAGTTGTCCCAATTCCTGTTGAATTAGATGG

	Экспрессируемый мутант GD1G		последовательность	TGATGTTAATGGGCACAAATTTCTGTCAAGTGGAGAGGGTGAAGGTGATGCAACATACGGAAACTTACCCTTAAATTTATTTGCACACTGGAAGAACTACCTGTTCCATGGCCAAACACTTGTCACTACTCTGACGTATGGTGTCAATGCTTTCCCGTTATCCGGATCATATGAAACGGCATGACTTTTTCAAGAGTGCCATGCCCGAAGGTTATGTACAGGAACGCATATCTTTCAAGATACGGGAACACAAGACGCGTGCTGAAGTCAAGTTTGAAGGTGATACCCCTGTTAATCGTATCGAGTTAAAAGGATTGATTTTAAAGAAGATGGAACATTCTCGGACACAACTCGAGTACAATAACTCACACAATGTATACATCACGGCAGACAAA CAAGGCATCAGGCCGATTATGAGCGGGTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGTCTGACTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGACGGCATTTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCCAGGCCATAACGGACTAAGTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCACTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTGGCCTTATGGGTTCAATGTTAATCCCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAAGTGACGCGAGTTCTTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGCTTGTATTGATCCAGCCATTACCAACCTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCACTGTTCGCGCATCTCAGGTAAGAATGGAATCAAAGCTAACTTCAAATTCGCCACAACATTGAAGATGGATCCGTTCAAAGTAGCAGACCATTTAACAATAACTCAATTCGCGATGGCCCTGTCTTTACCAGACAACCATACCTGTGACACAATCTGCCCTTTTGAAGATCCCAACGAAAAGCGTGACCACATGGTCTTCTTGTAGTTGTAAGTGTCTGGGAT TACACATGGCATGGATGAACTATACAAAACCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTTAA
0109	Мутант GD1G Экспрессируемый мутант GD1G	PRT	Искусственная последовательность	MSKGEELFTGVVPIVELDGDVNGHKFSVSGEGEDATYGLKTLKFICTTGKLPVWPPTLV TTLTYGVQCFSRYPDHMKRHDFFKSAMPEGYVQERTISFKDDGNYKTRAEVKFEGDTLV NRIELKIDFKEDGNILGHKLEYNYNSHNVTADKQGLSGRIMSLRINSKADDAAGQAIA NRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLQRVRELSVQATNGTNSDSDLKSIQ DEIQRLLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGVANDGETITIDLKQIDKVLGLDGFN VNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLGNTVTLNLSARSRIEDADYA LVPPISGKNGIKANFKIRHNIEDGSVQLADHYQQNTPIGDGPVLLPDNHYLSTQSALLKDPN EKRDHMLLEFVTAAGITHGMDELYKPRGSHHHHHHG
0110	Мутант MF227C матрица мутанта 470CT	ДНК	Искусственная последовательность	CTTGCCCTTGTATGGGTTCAATGTTAATCCCGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGAA TTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGACGCCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGC TTCAATTG
0111	Мутант MF227C матрица мутанта 470CT	PRT	Искусственная последовательность	LGLDGFNVNSPGISGGGGITLINEDAAAANKSTANPLASI
0112	Мутант MF227C Обратный праймер R2YU	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTCCGCGGAACAGTAAAGAGAGGACGTTTTGCGGAACCTGGTTGCATAGTC AGCATCTTCGATACG
0113	Мутант MF227C ДНК- последовательность мутанта MF227C	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCCAGGCCAC TAACGGGACTAAGTCTGATCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCACTTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGTGGGTTCAATGTTAATTTCCC GGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCGTTCTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTCAGCCATTACCAACCTTGG CAATACGTAACCAATCTGAACTCCGCGGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCA AACGAGTTCCGCAAAACGTCCTCTTTACTGTTCCGCGGGTCTCATCATCATC

				ATCATCATGGTTAAGTCGAC
0114	Мутант MF227C Мутант MF227C	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCT GAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAAT CAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGG TTGGTGCTAACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAG CCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCT TCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGAGTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCA AAACCGTTTTGATTAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCG CGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAAAACCGGTTCCGCAAAACGTCCTCTC TTACTGGTCCGCGGGTTCTCATCATCATCATCATGTTAA
0115	Мутант MF227C Мутант MF227C	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRVE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEEDRVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TTIDLKQIDVKSLGLDGFVNNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYANQVPQNVLSLLVPRGSHHHHHHG
0116	Мутант MF227N Обратный праймер RMF227N	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTCCCGGGGAACCATCGTTAGCACCAACCTGGATTTC
0117	Мутант MF227N ДНК- последовательность мутанта MF227N	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCTCTAGAATAATTT TGTTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGCGAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGACGCGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTGAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTCTGTC
				TCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTTCGCCGGGAAGTAC CGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGAGTTCGTTCTT CTCTGGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTACGCCATTACCAACCTGGCAATACGGT AACCAATCTGAACTCCGCGGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTT TCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGG CTAACCCAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTTTACTGGTCCGCGGGGTTCTCATCATCA TCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0118	Мутант MF227N mutant MF227N	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCT GAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAAT CAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGG TTGGTGCTAACGATGGTTCGCCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCT TGCAATGTCAAAGTGGACGCGAGTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGCTTT GATTACGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGGTAGCC GTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCT GCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCCAGGTTCCGCAAAACGTCCT CTCTTACTGGTCCGCGGGTTCTCATCATCATCATCATGTTAA
0119	Мутант MF227N mutant MF227N	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRVE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEEDRVSNQTQFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGS PGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEV SNMSKAQILQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHHHHHHG
0120	Мутант MF233 Обратный праймер RMF233	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTCCCGGGAACAGCAGGTTATTCTGGGTCAACAGCGACAGGCTGTTGTATTA ATGACTTGTGCATAGTCAGCATCTTCGATACG
0121	Мутант MF233	ДНК	Искусственная	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCTCTAGAATAATTT

	ДНК-последовательность конструкции MF233		последовательность	TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGCGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCT TCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTAAACCATTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTCAATGTTAATCCCC GGGAAGTACCCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTGAGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGC ACAAATCATTAAACAACAACGCTGTGCTGTTGACCCAGAATAACCTGCTGGTCCG CGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGTTAAGTCGAC
0122	Мутант MF233 MF233	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAAGCAGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCT GAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAAT CAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGCTCAGGACAACCAAGATGAAATCCAGG TTGGTCTAACGATGGTAAACCATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAG CCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCGGGAAGTACCCTAACCCACTGGCT TCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGTTCGTTCTTCTGCGGGCAATTC AAACCGCTTGTGATTGAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCC GCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCACAAGTCAATTAACAACAACGCTGT CGCTGTTGACCCAGAATAACCTGCTGGTCCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCA TGGTTAA
0123	Мутант MF233 MF233	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRRE
0124	Мутант MF471 Прямой праймер F471-77	ДНК	Искусственная последовательность	GCTGACTATGCAACGGCAGTTTCTGCTATGCTGCAGCGCAGATTCTGC
0125	Мутант MF471 Обратный праймер R471-77	ДНК	Искусственная последовательность	GCAGAATCTGCGCTGCAGACATAGCAGAACTGCCGTTGCATAGTCAGC
0126	Мутант MF471 ДНК-последовательность конструкции MF471	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGAAATTGTGAGCGGATAACAATCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGCGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCT TCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTAAACCATTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCC GGGAAGTACCCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTGAGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGCAGTTTCTGCTATGCTGCTGCAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTCTGGTTC GCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGTTAAGTCGAC
0127	Мутант MF471 MF471	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAAGCAGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCT

				GAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAAT CAGACTCAATTTAACCGGTGTTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGG TTGGTGCTAACGATGGTGAACCATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAG CCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATCCCGGGAAGTACCCTAACCCATCGGCT TCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGACGACGAGTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCA AAACCGCTTTGATTAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCC GCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGCAGTTTCTGCTATGTCTGCA GCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTCTGGTCCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCAT CATGGTTAA
0128	Мутант MF471 MF471	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEEDRVSNTQFNQVVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLQKIDVKSLGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSVDVAVRSSLGAIQNRFDASITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATAVSAMSAQAQLQQAGLVPRGSHHHHHHG
0129	Мутант MF479 Прямой праймер F479-83	ДНК	Искусственная последовательность	GTTTCTAATATGTCTAAAGCGGCGATTCTGGGAGCGGCTGGTCTGGTCCGCGG
0130	Мутант MF479 Обратный праймер R479-83	ДНК	Искусственная последовательность	CCGCGGAACCAGACCAGCCGCTCCAGAAATCGCCGCTTAGACATATTAGAAAC
0131	Мутант MF479 ДНК- последовательность конструкции MF479	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGCGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAAACGCTAACGACGCGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCCAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCCTGTC TCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGTACGATGGTGAACCAATTACCATC
				GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCCTCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTTCTTCTCTCTGGGGCAATTCAAACCGCTTTGATTACGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGAAAGTTCTAATATGTCTAAAGCGCGGATTCTGGGAGCGGCTGGTCTGGTTCC GCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0132	Мутант MF479 Мутант MF479	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCT GAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAAT CAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGG TTGGTGTCAACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAG CCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATCCCGGGAAGTACCCTAACCCACTGGCT TCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGAGTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCA AAACCGCTTTGATTAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCC GCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAAGTTCTAATATGCTCAAAG CGCGATTCTGGGAGCGGCTGGTCTGGTCCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATC ATGGTTAA
0133	Мутант MF479 Мутант MF479	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEEDRVSNTQFNQVVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLQKIDVKSLGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSVDVAVRSSLGAIQNRFDASITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAAILGAAGLVPRGSHHHHHHG
0134	Мутант N45 Прямой праймер N45_F	ДНК	Искусственная последовательность	TCTAGAGGATCCGGCAGGCCAGGCG
0135	Мутант N45	ДНК	Искусственная	CGCAAGCTTGTGCACTTAACGC

	Обратный R502D0		последовательность	
0136	Мутант N45 ДНК- последовательность мутанта N45	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGTTCTCATCATCATCATCATG GTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAAATGGTCCGGATCTGTACGACCTGGTTC CGCGCGGTAGCGCGAAGGATCCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTA ATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCA GACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTT GTCTGTTCAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGAT GAAATTCAGCAACGTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACG GTGTTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGG TGAACCACTTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGG TTCAATGTTAATTCCCGGGAAATTTCCGGTGGTGGTGGTGAATTTAGACTCCATGG GTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGACGCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGC TTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCAGTTCGTTCTTCTCTGGGGGCAATTC AAAACCGTTTTGATTACGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAATCC GCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAAGTTCTAATATGTCTAAAG CGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACAGGTTCCGC AAAACGCTCTCTTTACTGCGTTAAGTCGACAAGCTTGGCG
0137	Мутант N45 Мутант N45	PRT	Искусственная последовательность	MRGSHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDLVPRGSAKDPAGQAIANRFTSNIKGLTQASR NANDGISIAQTTEGALNEINNNLQVRRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEIDRVSN QTQFNVKVLSDQNMKIQVANDGETITIDLQKIDVKSLGLDFNVNSPISGGGGGILD SMGTLINEDAAAANKSTANPLASIDSALSKVDVRRSSLGAIQNRFDSAITNLGNTVNLNSA RSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR
0138	Мутант NGD1 ДНК- последовательность конструкции NGD1	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGTAAAGGAGAAGAACTTTTCACTGGAG TTGCCCCAATCTTGTGAATTAGATGGTGTGTTAATGGGCACAAATTTTCTGTCAGT GGAGAGGGTGAAGGTGATGCAACATACGGAAAACCTTACCCTTAAATTTATTGCACTA CTGGAAAACCTACCTGTCCATGGCCAACACTTGTCACTACTCTGACGTATGGTGTTC ATGCTTTTCCGTTATCCGGATCACATGAAACGGCATGACTTTTTCAAGAGTGCCATG CCCGAAGTTATGTACAGGAACGCCTATATCTTTCAAAGATGACGGGAACATAAGA CGCGTCTGAAGTCAAGTTTGAAGGTGATACCCTTGTAAATCGTATCGAGTTAAAGG TATTGATTTTAAAGAAGATGAAACATTCTCGGACACAACTCCGAGTACAACATAACT CACACAATGTATACATACGCGCAGACAACAAGGCCTATCAGGCCGATTATGAGCG GGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCCG TTCATTCTAATATCAAAGTCTGACTCAGGCTTCCGTAACGCTAACGACGCGCTTTC TATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTCGACGCTGT GCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCT ATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTC AATTTAACGGTGTAAAGTCCGTCTCAGGACAACAGATGAAATCCAGGTTGGTGC TAACGATGGTGAACCAATACCATCGATCTGCAAAAAATGATGTGAAAAGCCTTGGC CTTGATGGGTTCAATGTTAATTTCCCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATTC ATCTGCATTGTCAAAAGTGGACGCAGTTCTTCTCTGGGGGCAATTCAAAACCG CTTTGATTACGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCT AGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCACTGTTCCGCGGGTCTCATCATCATCATC ATCATGGTTAAGTCGAC
0139	Мутант NGD1 Экспрессируемый мутант SY3-GFP	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGTAAAGGAGAAGAACTTTTCACTGGAGTTGTCCCAATTTCTGTTGAATTAGATGG TGATGTTAATGGGCACAAATTTTCTGTCAGTGGAGAGGGTGAAGGTGATGCAACATAC GGAAAACCTACCTTAAATTTATTTGCACTACTGGAAAACCTGTTCCATGGCCAAC ACTTGTCACTACTCTGACGTATGGTGTCAATGCTTTTCCGTTATCCGGATCACATGA AACGGCATGACTTTTTCAAGAGTGCCATGCCCGAAGGTTATGTACAGGAACGCATAT ATCTTTCAAAGATGACGGGAACATAAGACGCGTCTGAAGTCAAGTTTGAAGGTGAT ACCTTGTAAATCGTATCGAGTTAAAAGGATTGATTTTAAAGAAGATGAAAACATTCT CGGACACAACTCGAGTACAACATAACTCACACAATGTATACATCAGGCAGACAAA CAAGGCCATCAGGCCGATTATGAGCGGGTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGAT

				GCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGTCTGACTCAG GCTTCCCCTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTG AATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTGAGGCCACTAACC GGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCGGA AGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGG ACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTAAACCATTACCATCGATCT GCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCCGGGA AGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGAGCGCAGTTT GTTCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGCTTGGATTAGCCATTACCAACCTTGGCAAT ACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGCTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCACTG GTTCCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATCATGTTAA
0140	Мутант NGD1 Экспрессируемый мутант SY3- GFP/мутант NGD1	PRT	Искусственная последовательность	MSKGEELFTGVVPIVELDGDVNGHKFSVSGEGEDATYKGLTLKFICTTGKLPVWPVTLV TTLTYGVQCFSRYPDHMKRHDFKFSAMPEGYVQERTISFKDDGNKYTRAEVKFEGDGLV NRIELKIDFKEDGNILGHKLEYNYNHNVITADKQGLSGRIMSLRINSAKDDAAGQAI NRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLQRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQ DEIQRLLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGVANDGETITIDLKQIDVLSGLDGFN VNSPGSTANPLASIDSALSKVDVRSLSLGAIQNRFDASITNLGNTVTNLNSARSRIEDADYA LVPRGSHHHHHHG
0141	Мутант S33 Прямой F502_S33	ДНК	Искусственная последовательность	TCTAGAGGATCCGCTGGTCTGCGTATCAACAGCGC
0142	Мутант S33 ДНК- последовательность мутанта S33	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATG GTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAAATGGGTCGGGATCTGTACGACCTGGTTC CGCGCGTAGCGGAAGGATCCGCTGGTCTGCGTATCAACAGCGCGAAAGACGAT GCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGTCTGACTCAG GCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTG AATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTGAGCCACTAACC
				GGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGA AGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGG ACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTAAACCATTACCATCGATCT GCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCCGGGA ATTTCCGGTGGTGGTGGTGAATTTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACG CTGCCGAGCCAAGAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTGCTGATTGTC AAAAGTGAGCGCAGTTTCGTTCTTCTGCGGGGCAATTCAAAACCGTTTGAATTCAGCC ATTACCAACCTTGGCAATACGTAACCAATCTGAACTCCGCGCTAGCCGTATCGAAG ATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAATATGCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGC TGGTACTTCGGTCTGCGCGAGGCTAACAGGTTCCGCAAAACGCTCTCTTTACTG CGTTAAGTCGAC
0143	Мутант S33 Мутант S33	ДНК	Искусственная последовательность	ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGTAGCATGACTGGTGGACAGC AAATGGGTCGGGATCTGTACGACCTGGTTCGCGCGGTAGCGCGAAGGATCCGCTG GTCTGGTATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGCGGATTGCTAACCGCT TCACTTCTAATATCAAAGGCTGACTCAGGCTTCCGTAACGCTAACGACGGCATTCT ATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTG CGTGAGTTGTCTGTTGAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTA TCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTTGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCA ATTTAACGGTGTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACCAAGATGAAATCCAGGTTGGTGT AACGATGGTAAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCC TTGATGGTTCATGTTAATCCCCGGAAATTTCCGGTGGTGGTGGTGAATTCAG CTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGAGCCAAGAAAAGTACCGCTAAC CCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGAGCGCAGTTGCTTCTCTGG GGCAATTCAAAACCGTTTTGATTGAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAAT CTGAACTCCGCGCTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAATA TGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGCGCAGGCTAAC AGGTTCCGCAAAACGCTCTCTTTACTGCGTTAA

0144	Мутант S33 Мутант S33	PRT	Искусственная последовательность	MRGSHHHHHHGMASMTGGQQMGRDLYDLVPRGSAKDPSSLRINSKDDAAGQAIANRF TSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEI QQRLEIIDRVSNQTFQNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGETITIDLQKIDVKSLGLDGFNVNS PGISGGGGGILDMSGTLINEDAAAANKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFD SAIT NLGNTVTNLNARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR
0145	Мутант SY3CT Обратный праймер RSY3CT	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTCCGCGGAACCACTGCATAGTCAGCATCTTCGATACGGC
0146	Мутант SY3CT ДНК- последовательность конструкции SY3CT	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATCGCGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGCGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAAGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTGAGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTAACGGTGTAAAGTCTGTC TCAGGACAACCAAGTAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCAATTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATTCCTC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGCAAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTGTTCAGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGC ACTGTTCCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0147	Мутант SY3CT Экспрессируемый мутант SY3CT	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAAGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTGAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCGATCT GAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAAT CAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACCAAGTAAATCCAGG
				TTGGTCTAACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAG CCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATTCCTCCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCT TCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGATTCTGTTCTTCTCTGGGGCAATTC AAACCGCTTGTGATTCAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCC GCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCACTGTTCCGCGGGGTTCTCATCAT CATCATCATCATGGTTAA
0148	Мутант SY3CT Экспрессируемый мутант SY3CT	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQQRLEIIDRVSNQTFQNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLQKIDVKSLGLDGFNVNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFD SAITNLG NTVTNLNARSRIEDADYALVPRGSHHHHHHGG
0149	Мутант 33MX Мутант 33MX	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAAGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTGCAGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTGAGCCACTGCGGGGCTAACGCTGATGCGGCTC TGAAGCTATCCAGGCTGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTCA GCAGACTCAAGCTGCGGCTGTTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACGCAATGGCAATCCA GGTTGGTGTAAACGATGGTGCCGCTATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAA AGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATTCCTCCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGG CTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGAGTTGTTCTTCTCTGGGGCAATT CAAAACCGCTTGTGATTCAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTC CGCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTCAAATGTCTAAA GCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCCAGGTTCCG CAAAACGTCCTCTTTACTGTTCCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTTA A
0150	Мутант 33MX Мутант 33MX	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNAADGISIAQTTEGALNEINNLRVRE LSVQATAGANADAALKAIAEIQQRLEIIDRVSNQTFQAAAVKVLSDNAMAIQVGANDGA AITIDLQKIDVKSLGLDGFNVNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFD SAITNLG

				NTVTNLNSARSRIEDADYATEVVSQMSKAQILQQAGTSLVLAQANQVQPNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0151	Мутант 33МХ ДНК- последовательность 33МХ	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCCTAACGCTGCAGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAGGCCAC TGCCGGGGCTAACGCTGATGCCGCTCTGAAAGCTATCCAGGCTGAAATTCAGCAACG TCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTCAGCAGACTCAAGCTGCCGCTGTTAAAGTCCTG TCTCAGGACAACGCAATGGCAATCCAGGTTGGTGTCAACGATGGTGCCGCTATTACCA TCGATCTGCAAAAAATTGATGTAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATTCC CCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGAAGC CAGTTCTGTTCTCTCGGGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTAGCCATTACCAACCTT GGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTAT GCAACGGAAGTTTCTCAAATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCG TTCTGGCGCAGGCTAACCGGTTCCGCAAAACGTCCTCTTTACTGTTCCGCGGG GTTCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0152	Мутант 485МХ ДНК- последовательность конструкции 485МХ	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCCTAACGCTGCAGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAGGCCAC TGCCGGGGCTAACGCTGATGCCGCTCTGAAAGCTATCCAGGCTGAAATTCAGCAACG TCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTCAGCAGACTCAAGCTGCCGCTGTTAAAGTCCTG TCTCAGGACAACGCAATGGCAATCCAGGTTGGTGTCAACGATGGTGCCGCTATTACCA TCGATCTGCAAAAAATTGATGTAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATTCC CCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGAAGC
				CAGTTCTGTTCTCTCGGGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTAGCCATTACCAACCTT GGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTAT GCAACGGAAGTTTCTCAAATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTCTGGTTC CGCGGGTTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0153	Мутант 485МХ Конструкция 485МХ	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCCTAACGCTGCAGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTACGCGCACTGCCGGGGCTAACGCTGATCCGCTC TGAAAGCTATCCAGGCTGAAATTCAGCAACGCTCGAAGAAATCGATCCGCTTCTCA GCAGACTCAAGCTGCCGCTGTTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACGCAATGGCAATCCA GGTTGGTGCTAACGATGGTGCCGCTATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAA AGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTAAATCCCAGGGAAGTACCGCTAACCCACTGG CTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCAATTCGTTCTTCTCGGGGGCAATT CAAAAACCGCTTTGATTAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTC CGCGGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTCAAATGTCTAAA GCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTCTGGTTCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCAT CATGGTTAA
0154	Мутант 485МХ Конструкция 485МХ	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNAADGISIAQTTEGALNEINNLQRVRE LSVQATAGANADAALKAIQAEIQRLLEIDRVSQTQAAAVKVLSDNAMAIQVANDGA AITIDLKIDVKSLGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSAITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVVSQMSKAQILQQAGLVPGRGSHHHHHH
0155	Мутант MIM4 Вариант CBLB502	ДНК	Искусственная последовательность	ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATCATGGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGC AAATGGGTCGGGATCTGTACGACGATGACGATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTTAA TACAACAGCCTGTGCTGTTGACCCAGAATAACCTGCAGAAATCTCAGTCCCTCACTG AGTTCCGCTATTGAGCGTCTGCCTCTGGTCTGCGTATCAACAGCGCGAAAGACGATG CGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGC TTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAAT

				GAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCCAGGCCACTCAAGGG ACTAACTCTGATTCGGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGGAAGA AATCGATCGCGTTTCTCAGCAGACTCAATTTAACGGTGTTAAAGTCTGTCTCAGGAC AACCAGATGAAAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCAATACCATCGATCTGC AAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCGGGAATT TCCGGTGGTGGTGGGAATTCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTG CCGACGCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAA AGTGGACGCGATTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTGAGCCATT ACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGATCGAAGATG CTGACTATGCAACGGAAGTTTCTCAAATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGG TACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACAGGTTCCGCAAAACGCTCTCTTTACTGCGT TAA
0156	Мутант MIM4 Дизайн праймеров (для делеции аминокислот Gln439; Asn440; Arg441; Phe442):	ДНК	Искусственная последовательность	AACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGATTGTTCTTCTCT GGGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTGAGCCATTACCGCCCTTGGCGCTACGGTAACC GCTCTGGCCTCCGCGCTAGCGCTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCT CAAATG
0157	Мутант MIM4 Дизайн праймеров (для делеции аминокислот Gln439; Asn440; Arg441; Phe442):	PRT	Искусственная последовательность	NPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSSAITALGATVTALASARSADADYATEVSNM
0158	Мутант MIM4 Прямой праймер MIM4	ДНК	Искусственная последовательность	GCAGTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTGATTGAGCCATTACCGCCCTTGG
0159	Мутант MIM4 Обратный праймер MIM4	ДНК	Искусственная последовательность	CCAAGGGCGGTAATGGCTGAATCAATTGCCCCAGAGAAGAACGAACTGC
0160	Мутант MIM4 MIM4	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCGCCCTTAGAAATAATT TTGTTTAACTTTAAGAAGGAGATACATATGCGGGTTCTCATCATCATCATCAT GGTATGGCTAGCATGACTGGTGACAGCAAATGGTCCGGATCTGTACGACGATGAC GATAAGGATCCGATGGCACAAGTCAATTAATCAAAACAGCCTGTGCGCTGTTGACCCAGA ATAACCTGAACAAATCTCAGTCCCTCACTGAGTTCGCTATTGAGCGTCTGCCTCTGG TCTGCGTATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTT CACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCT ATTGCGCAGACCACTGAAGTGCCTGAATGAAATCAACAACACCTGCAGCGTGTG CGTGAGTTGTCTGTTCCAGGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTA TCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGGAAGAAATCGATGCGCTTTCTAATCAGACTCA ATTTAACGGTGTTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAAATCCAGTTGGTGCT AACGATGGTGAACCAATACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCC TTGATGGGTTCAATGTTAATTCGCCGGGAATTTCCGGTGGTGGTGGGAATTCTAGA CTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGACGCAAGAAAAGTACCGCTAAC CCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGATTGTTCTTCTCTGG GGCAATTGATTGAGCCATTACCGCCCTTGGCGCTACGGTAACCGCTCTGGCCCTCG CGGCTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGC GCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACAGGTTCCGCA AAACGTCCTCTCTTTACTGCGTTAA
0161	Мутант MIM4 MIM4	PRT	Искусственная последовательность	MRGSHHHHHHGMSMTGGQMGRLDYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKSSSSL SSAIERLSSGLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNN LQRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQV GANDGETITIDLQKIDVKSGLDGFNVNSPGISGGGGGILDSMGTLINEAAAAKSTANPL ASIDSALSKVDAVRSSLGAIDSAITGATVTALASASRIEDADYATEVSNMSKAQILQQA

				GTSVLAQANQVPQNVLSLLR
0162	Мутант MIM5 Дизайн праймеров (мутации Gln439Ala; Asn440Lys; Arg441Ala):	ДНК	Искусственная последовательность	AACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGAGTTCGTTCTCTCT GGGGCAATTGCAAAGGCTTTTATTACGCCATTACCGCCCTTGGCGCTACGGTAAC CGCTCTGGCCTCCGCGGTAGCGCTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGGAAGTTTC TCAAATG
0163	Мутант MIM5 Дизайн праймеров (мутации Gln439Ala; Asn440Lys; Arg441Ala):	PRT	Искусственная последовательность	NPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIKAFDSAITALGATVTLASARSAIEDADYATEVSNM
0164	Мутант MIM5 Прямой праймер MIM5	ДНК	Искусственная последовательность	CGTTCCTCTCTGGGGCAATTGCAAAGGCTTTTATTGATTACGCCATTACCGC
0165	Мутант MIM5 Обратный праймер MIM5	ДНК	Искусственная последовательность	GCGGTAATGGCTGAATCAAAGCCTTTGCAATTGCCCCAGAGAAGAACG
0166	Мутант MIM5 MIM5	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCGCCCTAGAAATAATT TTGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGTTCATCATCATCATCATCAT GGTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAAATGGGTCGGGATCTGTACGACGATGAC GATAAGGATCCGATGGCACAAGTCATTAATACAAACAGCCTGTCGCTGTTGACCCAGA ATAACCTGAACAAATCTCAGTCCTCACTGAGTTCGGCTATTGAGCGTCTGTCTCTGG TCTGCGTATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTT CACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGACGCGCATTTCT ATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACACCTGCAGCGTGTG CGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTA TCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCA ATTTAACGGTGTAAAGTCTCTGCTCAGGACAACAGATGAAATCCAGGTTGGTGCT AACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCC TTGATGGGTTCAATGTTAATTCGCCGGAAATTTCCGGTGGTGGTGGTGAATTTCTAGA CTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGAGCCAAGAAAAGTACCGCTAAC CCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCACTCGTTCCTCTCTGG GGCAATTCCAAAGGCTTTTATTGATTACGCCATTACCGCCCTTGGCGCTACGGTAACCG CTCTGGCCTCCGCGGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAA TATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAAC CAGGTTCCGCAAAACGCTCCTCTCTTACTGCGTTAA
0167	Мутант MIM5 MIM5	PRT	Искусственная последовательность	MRGSHHHHHGMSMTGGQMQGRDLYDDDDKDPMAQVINTNSLSLLTQNNLNKSQSSL SSAIERLSSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINN LQRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQV GANDGETITIDLKIDVKSLGLDGFVNSPISGGGGGILDSMGTLINEAAAAKSTANPL ASIDSALSKVDAVRSSLGAIKAFDSAITALGATVTLASAASRIEDADYATEVSNMSKAQIL QQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR
0168	Мутант MIMX Мутант 33MIMX	ДНК	Искусственная последовательность	ATGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGTTGCTAGCATGACTGGTGGACAGC AAATGGGTCGGGATCTGTACGACCTGGTTCCGCGCGGTAGCGCGAAGGATCCGCTCTG GTCTGCGTATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCGAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCT TCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCGTAACGCTGCAGACGGCATTTC TATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGGTGT GCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCT ATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTCTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTC AAGCTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACGCAATGAAAATCCAGGTTGGTGC TAACGATGGTGCCTATTACCATCGATCTGCAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGC CTTGATGGGTTCAATGTTAATTCGCCGGAAATTTCCGGTGGTGGTGGTGAATTTCTAG

				ACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGACGCTGCCGACGCAAGAAAAGTACCGCTAA CCCCTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAAGTGGACGCGAGTTCTTCTCTCTG GGGGCAATTCAAGCTCGTTTTGCCGCGGCCATTGCTAACCTTGGCAATACGGTAACCA ATCTGAACCTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAAGTTCTAA TATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAAC CAGGTTCCGCAAACGTCCTCTCTTTACTGCGTTAA
0169	Мутант MIMX MIMx	PRT	Искусственная последовательность	MRGSHHHHHHGMASMTGGQMGDRDLYDLVPRGSAKDPGLRINSKDDAAGQAIANRF TSNIKGLTQASRNAADGSIQATTEGALNEINNLQVRVRELSVQATNGTNSDSLKSIQDEI QQRLEEDRVSNQTFANGVKVLSQDNAMKIQVGVANDGAAITDLQKIDVKSGLDGFVNVS PGISGGGGGILDMSGLINEDAAAAKSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQARFAAAIA NLGNTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLR
0170	Мутант MIMX ДНК- последовательность 33MIMx	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCGCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGCGGGGTTTCATCATCATCATCATCATG GTATGGCTAGCATGACTGGTGGACAGCAATGGGTCGGGATCTGTACGACCTGGTTCC CGCGCGTAGCGGAAGGATCCGTCTGGTCTGCGTATCAACAGCCGGAAGACGAT GCGGCAGGCCAGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAAGTCTGACTCAG GCTTCCCCTAACGCTGCAGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTG AATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCCAGGCCACTAACG GGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGCTGGA AGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAAGCTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAG GACAACGCAATGAAATCCAGTTGGTGTACGATGGTCCGCTATTACCATCGATC TGCAAAAATGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTCAATGTTAATTCGCCGGG AATTTCCGGTGGTGGTGGTGAATTCTAGACTCCATGGGTACATTAATCAATGAAGAC GCTGCCGACGCAAGAAAAGTACCGCTAACCCACTGGCTCAATTGATTCTGCATTGT CAAAAGTGGACGCGATTCTTCTCTGGGGCAATTCAGCTCGTTTTGCCGCGG CCATTGCTAACCTTGGCAATACGTAACCAATCTGAACTCCGCGCTAGCCGATGCGA AGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAG GCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTCTTTAC TGCGTTAAGTCGAC
0171	Мутант MIXC Обратный праймер RMIXC	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTGTCGACTTAACCATGATGATGATGATGATGAGAACCCCGCGGAACAGTAAA GAGAGGACGTTTTGCGGAACC
0172	Мутант MIXC ДНК- последовательность MIXC	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCGCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGCGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAAGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCCAGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTCTGTC TCAGGACAACCAGATGAAAATCCAGGTTGGTGTACAGTGGTGAACCAATTACCATC GATCTGCAAAAATGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTCAATGTTAATTCGCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGCAAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTCTCTGGGGCAATTCAGCTCGTTTTGCCGCGGCCATTGCTAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTT CTGGCGCAGGCTAACAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTCTTTACTGTTCCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATGTTAAGTCGAC
0173	Мутант MIXC MIXC	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLQVRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQQRLEEDRVSNQTFANGVKVLSQDNQMKIQVANDGE TITIDLQKIDVKSGLDGFVNNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQARFAAAIANLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0174	Мутант MIXN Прямой праймер	ДНК	Искусственная последовательность	AGATCTCATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGC

	FMIMxN			
0175	Мутант MIXN ДНК- последовательность MIX.N	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCCTAACGCTGCAGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAAGCTAACGGTGTAAAGTCCTGT CTCAGGACAACGCAATGAAATCCAGGTTGGTCTAACGATGGTGCCGCTATTACCAT CGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCC CGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGACGC AGTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCAAACCGCTTGAATCAGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTT CTGGCGCAGGCTAACAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTTTACTGGTTCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATCATGTTAAGTCGAC
0176	Мутант MIXN Экспрессируемый мутант MIX.N	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNAADGISIAQTTEGALNEINNLQVRVE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEEIDRVSNQTQANGVKVLSQDNAMKIQVANDGA AITIDLQKIDVKSLGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDIAITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQPQVNLSSLVPRGSHH HHHHG
0177	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Мутанты 502 MIM1; MIM2 и MIM3 С-концевой части CBLB502	ДНК	Искусственная последовательность	AACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCGAGTTCGTTCTTCTCT GGGGCAATTCAAAACCGTTTTGATTAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACC AATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTC AAATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAA CCAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTCTTTACTGCGTTAA
0178	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Дизайн праймеров (мутант MIM1)	ДНК	Искусственная последовательность	ATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAG AT
0179	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Дизайн праймеров (мутант MIM1)	PRT	Искусственная последовательность	ITNLGNTVTNLNSARSRIED
0180	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Прямой праймер 455-57	ДНК	Искусственная последовательность	CCTTGGCAATACGGTAACCGCTCTGGCCTCCGCGCGTAGCCGTATC
0181	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Обратный праймер 455-57	ДНК	Искусственная последовательность	GATACGGCTACGCGCGGAGGCCAGAGCGGTTACCGTATTGCCAAGG
0182	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Дизайн праймеров (мутант MIM2_MIM1 плюс R460A)	ДНК	Искусственная последовательность	ACGGTAACCGCTCTGGCCTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGCAACG GAA
0183	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Дизайн праймеров (мутант MIM2_MIM1 плюс R460A)	PRT	Искусственная последовательность	TVTALASARSRIEDADYATE
0184	Мутанты MIM1;	ДНК	Искусственная	GCTCTGGCCTCCGCGGCTAGCCGTATCGAAGATG

	MIM2 и MIM3 Прямой праймер 460		последовательность	
0185	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Обратный праймер 460	ДНК	Искусственная последовательность	CATCTTCGATACGGCTAGCCGGAGGCCAGAGC
0186	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Дизайн праймеров (мутант MIM3_MIM2 плюс N448A; N451A)	ДНК	Искусственная последовательность	CAAAACCGTTTTGATTACGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCGCTCTGGCCT CC
0187	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Дизайн праймеров (мутант MIM3_MIM2 плюс N448A; N451A)	PRT	Искусственная последовательность	QNRFDSAITNLGNTVTALAS
0188	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Прямой праймер 448-51	ДНК	Искусственная последовательность	GTTTTGATTACGCCATTACCGCCCTTGGCGCTACGGTAACCGCTCTGG
0189	Мутанты MIM1; MIM2 и MIM3 Обратный праймер 448-51	ДНК	Искусственная последовательность	CCAGAGCGGTTACCGTAGCGCCAAGGGCGGTAATGGCTGAATCAAAAC
0190	Мутант ME42 Прямой праймер ME42	ДНК	Искусственная последовательность	CAACAGCGCGAAAGCCGATGCGGGAGGCCAGGCGATTGC
0191	Мутант ME42 Обратный праймер ME42	ДНК	Искусственная последовательность	GCAATCGCCTGGCCTCCCGCATCGCTTTCGCGCTGTTG
0192	Мутант ME42 Последовател ьность конструкции ME42	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCTCTAGAATAATTT TGTTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GCCGATGCGGGAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTG ACTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTACAGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTAACGGTGTAAAGTCCTGTG TCAGGACAACCAGATGAAATCCAGTTGGTGCTAACGATGGTGAAACCAATTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATCCCC GGGAAGTACCCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAGTGGACGCA GTTTCGTTCTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTGGATTACGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTT CTGGCGCAGGCTAACCCAGTTCCGCAAACGTCCTCTTTACTGGTCCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATGTTAAGTCGAC
0193	Мутант ME42 Мутант ME42	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKADAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLQRVRE LSVQATNGTNSDSLQDEIQRLLEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLQKIDVKSGLDGFNVNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSLVAQANQVPQNVLSLLVPRGSHH HHHNG
0194	Мутант ME110 Прямой праймер ME100	ДНК	Искусственная последовательность	GTCTGTTACAGCCACTGCCGGGGCTAACTCTGATTCCGATCTG

0195	Мутант ME110 Обратный праймер ME100	ДНК	Искусственная последовательность	CAGATCGGAATCAGAGTTAGCCCCGGCAGTGGCCTGAACAGAC
0196	Мутант ME110 Последовательность в конструкции ME100	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCCAGGCCAC TGCCGGGGCTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTAACGGGTGTTAAAGTCTGTG TCAGGACAACCCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAAACCAATACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCCTCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTACGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGATATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGTTACTTCCGTT CTGGCGCAGGCTAACCCAGTTCCGCAAAACGTCCTCTCTTTACTGTTCCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0197	Мутант ME110 Мутант ME110	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDAAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLQRVRE LSVQATAGANSDSLKSIQDEIQRLLEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVANDGE TITIDLKQIDVKSGLDGFVNNSPGSTANPLASIDSALSKVDVRRSLGAIQNRFDSAITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0198	Мутант ME100/110 Прямой праймер ME110	ДНК	Искусственная последовательность	CTGATTCCGATCTGAAAGCTATCCAGGCTGAAATTCAGCAACGTC
0199	Мутант ME100/110 Обратный праймер ME110	ДНК	Искусственная последовательность	GACGTTGCTGAAATTCAGCCTGGATAGCTTTCAGATCGGAATCAG
0200	Мутант ME100/110 Последовательность в конструкции ME100/110	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCCAGGCCAC TGCCGGGGCTAACTCTGATTCCGATCTGAAAGCTATCCAGGCTGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTAACGGGTGTTAAAGTCTGTG TCAGGACAACCCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAAACCAATACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCCTCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTACGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGATATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTT CTGGCGCAGGCTAACCCAGTTCCGCAAAACGTCCTCTCTTTACTGTTCCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0201	Мутант ME104N Промежуточный мутант ME100/110	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCCAGGCCACTGCCGGGGCTAACTCTGATTCCGATC TGAAAGCTATCCAGGCTGAAATTCAGCAACGCTGGAAGAAATCGATCGGTTTCTAA TCAGACTCAATTAACGGGTGTTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCCAGATGAAATCCAG GTTGGTGCTAACGATGGTGAAACCAATACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAA GCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCCTCCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGC TTCAATTGATTCTGATTGTCAAAGTGGACGCGATTCTGTTCTCTGCGGGCAATTC AAAACCGCTTTGATTACGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCC

				TCTCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0210	Мутант ME104N Мутант ME104N	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRE LSVQATAGANADAALKAIAEQRLLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLQKIDVKSGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSKVDVRRSLGAIQNRFDASAITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0211	Мутант ME110 Последовательность конструкции ME110	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCGCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGCTGTTCAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAAAGCTATCCAGGCTGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTAACGGTGTAAAGTCTGTCTC TCAGGACAACCAGATGAAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCACTTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTAAAAGCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCGCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTGTATTGAGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCGGTT CTGGCGCAGGCTAACCCAGTTCGCAAAACGCTCTCTTTACTGTTCCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0212	Мутант ME110 Мутант ME110	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRE LSVQATNGTNSDSLKAIQAEIQRLLEEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLQKIDVKSGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSKVDVRRSLGAIQNRFDASAITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0213	Мутант ME117	ДНК	Искусственная последовательность	CTATCCAGGATGAAATTCAGGCACGCTGGCAGAAATCGATCGCG
	Прямой праймер ME117		последовательность	
0214	Мутант ME117 Обратный праймер ME117	ДНК	Искусственная последовательность	CGCGATCGATTCTGCCAGACGTGCCTGAATTCATCCTGGATAG
0215	Мутант ME117 Последовательность конструкции 33ML (возможно имелось в виду ME117?)	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCGCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGCTGTTCAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGGCACGT CTGGCAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTAACGGTGTAAAGTCTGTCTC TCAGGACAACCAGATGAAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCACTTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTAAAAGCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCGCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTGTATTGAGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACCTCCGCGGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCGGTT CTGGCGCAGGCTAACCCAGTTCGCAAAACGCTCTCTTTACTGTTCCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0216	Мутант ME117 Мутант ME117	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIARLAEIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLQKIDVKSGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSKVDVRRSLGAIQNRFDASAITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0217	Мутант ME124 Прямой праймер	ДНК	Искусственная последовательность	GGAGAAATCGATGCCGTTTCTGCTGCGACTCAATTAACGGTGTAAAGTCTGTCT C

	ME104			
0218	Мутант ME124 Обратный праймер ME104	ДНК	Искусственная последовательность	GAGACAGGACTTTAACACCGTTAAATTGAGTCGCAGCAGAAAACGGCATCGATTTCTTC C
0219	Мутант ME124 Последовательность в конструкции ME124	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATGCCGTTTCTGCTGCGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCCTGT CTCAGGACAACCAGATGAAAATCCAGGTTGGTCTAACGATGGTGAACCACTTACCAT CGATCTGCAAAAAATTGATGTAAAAGCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCCTC CGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGC AGTTCTGTTCTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTGTTCAGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGATCAGAAGTGTGACTATGC AACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTT CTGGCGCAGGCTAACCCAGTTCGCAAAACCGCTCTTTACTGTTCCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATGTTAAGTCGAC
0220	Мутант ME124 Мутант ME124	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLQRVRE LSVQATNGTNSDSDLKSIQDEIQRLLEEIDAVSAATQFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLKQIDVKLSGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDSAITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSLAQLANQVQNLVSLVPRGSHH HHHHG
0221	Мутант ME124P Прямой праймер ME124P	ДНК	Искусственная последовательность	CAGCAACGCTGGAAGAAATCGATGCCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGG
0222	Мутант ME124P Обратный праймер ME124P	ДНК	Искусственная последовательность	CCGTTAAATTGAGTCTGATTAGAAACGGCATCGATTTCTTCCAGACGTTGCTG
0223	Мутант ME124 Экспрессируемый мутант ME124P	ДНК	Искусственная последовательность	ATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAAAGACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGC TAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGACTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGAC GGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTGCGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGC AGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCACTAACGGGACTAACTCTGATCCCGACT GAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGTCTGGAAGAAATCGATGCCGTTTCTAAT CAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTCTCAGGACAACCAGATGAAATCCAGG TTGGTCTAACGATGGTGAACCAATTACCATCGATCTGCAAAAAATTGATGTAAAAG CCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCCTCCGGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCT TCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCAGTTCGTTCTTCTCTGGGGCAATTCA AAACCGCTTGTATTAGCCATTACCAACCTTGGCAATACGGTAACCAATCTGAACTCC GCGCGTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGCAACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAG CGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTTCTGGCGCAGGCTAACCCAGGTTCCGC AAAACGCTCTCTTTACTGTTCCGCGGGGTTCTCATCATCATCATCATGTTAA
0224	Мутант ME124P ME124P	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCCTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCCTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAAGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATGCCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCCTGTC TCAGGACAACCAGATGAAAATCCAGGTTGGTCTAACGATGGTGAACCACTTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTAAAAGCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTCCTC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTGTTCAGCCATTACCAACCTTG

				GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTT CTGGCGCAGGCTAACCCAGGTTCCGCAAACGTCCTCTCTTTACTGGTTCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATGTTAAGTCGAC
0225	Мутант ME124P ME124P	PRT	Искусственная последовательность	MSGRLINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLQRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEEIDAVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLKQIDVKSLGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0226	Мутант ME132 Прямой праймер ME132	ДНК	Искусственная последовательность	CGTTTCTAATCAGACTCAATTTGCCGCTGTTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACC
0227	Мутант ME132 Обратный праймер ME132	ДНК	Искусственная последовательность	GGTTGTCCTGAGACAGGACTTTAACAGCGGCAAATTGAGTCTGATTAGAAACG
0228	Мутант ME132 Последовательность конструкции ME132	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTGCCGCTGTTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACCGATGAAAATCCAGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCAATTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTTCAATGTTAATTTCCCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCGTTCTTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTAGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGC
				AACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTT CTGGCGCAGGCTAACCCAGGTTCCGCAAACGTCCTCTCTTTACTGGTTCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATGTTAAGTCGAC
0229	Мутант ME132 Мутант ME117 (ME132?)	PRT	Искусственная последовательность	MSGRLINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNLQRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLLEEIDRVSNQTFQAAVKVLSQDNQMKIQVGANDGE TITIDLKQIDVKSLGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSKVDAVRSSLGAIQNRFDASITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVPQNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0230	Мутант ME142 Прямой праймер ME142	ДНК	Искусственная последовательность	GTTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACGCGATGGCAATCCAGGTTGGTGCTAACG
0231	Мутант ME142 Обратный праймер ME142	ДНК	Искусственная последовательность	CGTTAGCACCAACCTGGATTGCCATCGCGTTGTCCTGAGACAGGACTTTAAC
0232	Мутант ME142 Последовательность конструкции ME142	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCCCTCTAGAATAATTT TGTTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGTCTGTTCAGGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATTCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCCTGTCTCAGGACAACCGATGGCAATCCAGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCAATTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGTTCAATGTTAATTTCCCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCGTTCTTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTTGATTAGCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCGTAGCCGTATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTTCCGTT

				CTGGCGCAGGCTAACCCAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTTTACTGGTCCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0233	Мутант ME142 Мутант ME142	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEIIDRVSNQTFNGVKVLSQDNAMAIQVQANDGE TITIDLKQIDVKSLGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSVDVAVRSSLGAIQNRFDASAITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVQNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0234	Мутант ME150 Прямой праймер ME150	ДНК	Искусственная последовательность	GATGAAAAATCCAGGTTGGTGCTAGCGCTGCTGAAACCATTACCATCGATCTGC
0235	Мутант ME150 Обратный праймер ME150	ДНК	Искусственная последовательность	GCAGATCGATGGTAATGGTTTCAGCAGCGCTAGCACCAACCTGGATTTTCATC
0236	Мутант ME150 Последовательность конструкции ME150	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGCGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGCTGTTCAAGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTC TCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAGCGCTGCTGAAACCATTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTCAATGTTAATCCCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTGTATTGACCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCTAGCCGATCGAAGATGCTGACTATGC AACGGAAAGTTTCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTCCGTT CTGGCGCAGGCTAACCCAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTTTACTGGTCCGCGGGGT TCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0237	Мутант ME150 Мутант ME150	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEIIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVGASAAE TITIDLKQIDVKSLGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSVDVAVRSSLGAIQNRFDASAITNLG NTVTNLNSARSRIEDADYATEVSNMSKAQILQQAGTSVLAQANQVQNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0238	Мутант ME468 Прямой праймер ME468	ДНК	Искусственная последовательность	GCCGATCGAAGATGCTGACGCTGGAGCGGAAGTTGCTAATATGTCTAAAGCGCAG
0239	Мутант ME468 Обратный праймер ME468	ДНК	Искусственная последовательность	CTGCGCTTAGACATATTAGCAACTCCGCTCCAGCGTCAGCATCTTCGATACGGC
0240	Мутант ME468 Последовательность конструкции ME468	ДНК	Искусственная последовательность	TAATACGACTCACTATAGGGGAATTGTGAGCGGATAACAATCCCTCTAGAATAATTT TGTTAACTTTAAGAAGGAGATATACATATGAGCGGGTTACGGATCAACAGCGCGAAA GACGATGCGCGCAGGCCAGGCGATTGCTAACCGCTTCACTTCTAATATCAAAGGTCTGA CTCAGGCTCCCGTAACGCTAACGACGGCATTCTATTGCGCAGACCACTGAAGGTG CGCTGAATGAAATCAACAACAACCTGCAGCGTGTGCGTGAGTTGCTGTTCAAGCCAC TAACGGGACTAACTCTGATCCGATCTGAAATCTATCCAGGATGAAATTCAGCAACGT CTGGAAGAAATCGATCGCGTTTCTAATCAGACTCAATTTAACGGTGTAAAGTCTGTC TCAGGACAACCAGATGAAATCCAGGTTGGTGCTAACGATGGTGAACCATTACCATC GATCTGCAAAAAATTGATGTGAAAAGCCTTGGCCTTGATGGGTCAATGTTAATCCCC GGGAAGTACCGCTAACCCACTGGCTTCAATTGATTCTGCATTGTCAAAGTGGACGCA GTTCTGTTCTCTGCGGGCAATTCAAAACCGCTTGTATTGACCCATTACCAACCTTG GCAATACGGTAACCAATCTGAACTCCGCGCTAGCCGATCGAAGATGCTGACGCTG GAGCGGAAGTTGCTAATATGTCTAAAGCGCAGATTCTGCAGCAGGCTGGTACTCCGT TCTGGCGCAGGCTAACCCAGGTTCCGCAAAACGTCCTCTTTACTGGTCCGCGGGG TTCTCATCATCATCATCATCATGGTTAAGTCGAC
0241	Мутант ME468 Мутант ME468	PRT	Искусственная последовательность	MSGLRINSAKDDAAGQAIANRFTSNIKGLTQASRNANDGISIAQTTEGALNEINNNLQRVRE LSVQATNGTNSDSLKSIQDEIQRLEIIDRVSNQTFNGVKVLSQDNQMKIQVANDGE TITIDLKQIDVKSLGLDGFVNSPGSTANPLASIDSALSVDVAVRSSLGAIQNRFDASAITNLG NTVTNLNSARSRIEDADAGAEVANSKAQILQQAGTSVLAQANQVQNVLSLLVPRGSHH HHHHG
0242	Линкер	PRT	Искусственная последовательность	SPG

Применение композиций, относящихся к флагеллину.

В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, могут стимулировать активность Toll-подобных рецепторов (например, TLR1, и/или TLR2, и/или TLR3, и/или TLR4, и/или TLR5, и/или TLR6, и/или TLR7, и/или TLR8, и/или TLR9, и/или TLR10, и/или TLR11, и/или TLR12, и/или TLR13). Семейство TLR состоит по меньшей мере из 10 членов и является существенно необходимым для врожденной иммунной защиты против патогенов. Врожденная иммунная система распознает

консервативные патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP). TLR может распознавать консервативную структуру, характерную для бактериального флагеллина, которая может состоять из большой группы остатков, которые допускают до некоторой степени вариативность в составе аминокислот. В статье Smith et al., Nat. Immunol. 4:1247-53 (2003) идентифицировали 13 консервативных аминокислот во флагеллине, которые являются частью консервативной структуры, распознаваемой TLR5. 13 консервативных аминокислот флагеллина, которые могут быть важны для активности TLR5, показаны на фиг. 1А и 1В.

В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, активирует путь сигнализации TLR5. В некоторых вариантах реализации композиция, относящаяся к флагеллину, активирует TLR5 на тех же уровнях или уровнях, близких к активации CBLB502. Активация TLR5 индуцирует экспрессию ядерного фактора NF-κB, который, в свою очередь, активирует многочисленные цитокины, имеющие отношение к воспалению. В дополнительных вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, индуцируют экспрессию провоспалительных цитокинов. В дополнительных вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, индуцируют экспрессию противовоспалительных молекул. В другом варианте реализации композиции, относящиеся к флагеллину, индуцируют экспрессию противовоспалительных молекул. В еще одном дополнительном варианте реализации композиции, относящиеся к флагеллину, индуцируют экспрессию антибактериальных молекул. Мишени NF-κB включают ИЛ-β, ФНО-α, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-18, ГКФ, TNFSF13B, хемоаттрактант кератиноцитов (KC), BLIMP1/PRDM1, CCL5, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL22, CCL23, CXCL1, CCL28, CXCL11, CXCL10, CXCL3, CXCL1, GRO-бета, GRO-гамма, CXCL1, ICOS, интерферон гамма (ИФН-Г), ИЛ-1А, ИЛ-1В, IL1RN, ИЛ-2, ИЛ-9, ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-12В, ИЛ-12А, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-23А, ИЛ-27, индуцируемый вирусом Эпштейна-Барра белок 3 (EBI3), ИФН-В1, CXCL5, KC, NGp1, CXCL5, CXCL6, лимфотоксин-альфа (LTA), лимфотоксин-бета (LTB), CCL2, CXCL9, MCP-1/JE, CCL3, CCL4, CXCL3, CCL20, CXCL10, CXCL5, CCL5, CCL1, ФНО-β, TNFSF10, фактор трилистника 3 (TFF3), TNFSF15, CD86, компонент 8а комплемента, CCL27, дефензин-β3, MIG, MIP-2 и/или NOD2/CARD15, но не ограничиваются ими.

В некоторых вариантах реализации активация пути сигнализации TLR5 может регулировать иммунную функцию CD4⁺ Т-клеток путем повышения выработки регуляторных Т-клеток (T_{рег}), снижения индуцируемой липополисахаридами (ЛПС) активации регулируемой внеклеточными сигналами киназы 1/2 (ERK1/2) и/или активации Т-клеток, являющихся натуральными киллерами (НК-клеток).

Болезни и способы лечения/профилактики.

В различных вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) и способы, описанные в настоящем документе, можно применять при разнообразных болезненных состояниях. В одном из аспектов согласно настоящему изобретению предложен способ стимулирования сигнального пути TLR5, включающий введение композиции, относящейся к флагеллину, согласно настоящему изобретению субъекту, который нуждается в этом. Активирование сигнального пути TLR5 может иметь широкое терапевтическое применение, включая лечение рака, защиту от повреждения, индуцируемого радиацией или реперфузией, действие в качестве адьюванта в вакцинах или защите клеток от цитотоксических соединений, но не ограничивается только этим.

В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, согласно настоящему изобретению или их фрагменты могут быть представлены в качестве адьювантов в вирусных вакцинах. В одном из вариантов реализации композиции, относящиеся к флагеллину, или их фрагменты можно вводить одновременно с вакциной против гриппа или антигеном для возбуждения более сильного иммунного ответа организма на антигены вируса гриппа. В еще одном дополнительном варианте реализации композиции, относящиеся к флагеллину, согласно настоящему изобретению или их фрагменты могут быть представлены в качестве адьювантов в вакцинах против паразитов. Таким образом, в одном из вариантов реализации композиции, относящиеся к флагеллину, или их фрагменты можно вводить одновременно с вакциной против Plasmodium или антигеном для возбуждения более сильного иммунного ответа организма на антиген Plasmodium.

В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, согласно настоящему изобретению можно вводить для защиты клеток от токсических условий. В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, могут защищать клетки печени от Fas-опосредованного повреждения. Композиции, относящиеся к флагеллину, согласно настоящему изобретению могут вызывать снижение уровня ферментов печени в периферической крови и активацию каспаз.

Раковые заболевания.

В различных вариантах реализации настоящее изобретение относится к раковым заболеваниям и/или опухолям; например лечению или профилактике раковых заболеваний и/или опухолей. Используемый в настоящем описании термин "рак" или "опухоль" относится к нерегулируемому росту клеток, и/или аномальной выживаемости клеток, и/или ингибированию апоптоза, которое мешает нормальному функционированию органов и систем организма. В термин включены доброкачественные и злокачественные раковые заболевания, полипы, гиперплазия, а также латентные опухоли и микрометастазы. Так-

же включены клетки, имеющие аномальную пролиферацию, которая не сдерживается иммунной системой (например, инфицированные вирусом клетки). Субъект, у которого есть рак или опухоль, представляет собой субъект, в организме которого присутствуют объективно определяемые раковые клетки. Раковые заболевания, которые перемещаются из изначальной локации и поражают жизненно важные органы, могут в конечном итоге привести к смерти субъекта посредством функционального нарушения пораженных органов. Гемопозитические раковые заболевания, такие как лейкемия, могут вытеснять нормальные гемопозитические компартменты у субъекта, тем самым приводя к недостаточности кроветворения (в форме анемии, тромбоцитопении и нейтропении), в конечном итоге приводящей к смерти.

Рак может представлять собой первичный рак или метастатический рак. Первичный рак может представлять собой область раковых клеток в месте возникновения, которая становится клинически выявляемой, и может представлять собой первичную опухоль. В противоположность этому, метастатический рак может представлять собой распространение заболевания из одного органа или части в другой несмежный орган или часть. Причиной метастатического рака может быть раковая клетка, которая приобретает способность проникать и инфильтровать окружающие нормальные ткани в локальной области, образуя новую опухоль, которая может представлять собой локальный метастаз.

Причиной рака также может быть раковая клетка, которая приобретает способность проникать через стенки лимфатических и/или кровеносных сосудов, после чего раковая клетка способна циркулировать по кровотоку (таким образом, становясь циркулирующей опухолевой клеткой) к другим участкам и тканям в организме. Рак может быть обусловлен процессом, таким как лимфогенное или гематогенное распространение. Причиной рака также может быть опухолевая клетка, которая остановилась в другом участке, повторно проникла через сосуд или стенки, продолжила размножаться и в конечном итоге сформировала другую клинически выявляемую опухоль. Рак может представлять собой эту новую опухоль, которая может быть метастатической (или вторичной) опухолью.

Причиной рака могут быть метастазировавшие опухолевые клетки, которые являются вторичной или метастатической опухолью. Клетки этой опухоли могут быть подобны клеткам исходной опухоли. В качестве примера, если рак молочной железы или рак толстой кишки метастазирует в печень, вторичная опухоль, хотя находится в печени, состоит из атипичных клеток молочной железы или толстой кишки, а не из атипичных клеток печени. Таким образом, опухоль в печени может быть метастатическим раком молочной железы или метастатическим раком толстой кишки, а не раком печени. Рак может происходить из любой ткани. Рак может происходить, например, из меланомы, толстой кишки, молочной железы или предстательной железы и, таким образом, может состоять из клеток, которые изначально были клетками соответственно кожи, толстой кишки, молочной железы или предстательной железы. Рак также может представлять собой гематологическую злокачественную опухоль, которая может быть лимфомой. Рак может поражать ткань, такую как ткань печени, легкого, мочевого пузыря или кишечника. Пораженная ткань может экспрессировать TLR, тогда как рак может экспрессировать или может не экспрессировать TLR.

В настоящем изобретении также предложен способ снижения вероятности рецидива рака, включающий введение нуждающемуся в этом млекопитающему композиции, относящейся к флагеллину, согласно настоящему изобретению. Рак может присутствовать или присутствовал в ткани, которая экспрессирует или не экспрессирует TLR, такой как TLR5. Способ также может предотвращать рецидив рака. Рак может представлять собой онкологическое заболевание. Рак может представлять собой латентную опухоль, которая может быть следствием метастазирования рака. Латентная опухоль может быть остаточной опухолью после хирургического удаления опухоли. Рецидив рака может представлять собой повторный рост опухоли, метастазирование легких или метастазирование печени.

Типичные раковые заболевания и/или опухоли согласно настоящему изобретению могут экспрессировать или могут не экспрессировать TLR5 и могут включать базально-клеточную карциному, рак желчевыводящих путей; рак мочевого пузыря; рак костей; рак головного мозга и центральной нервной системы; рак молочной железы; рак брюшины; рак шейки матки; хориокарциному; рак толстой и прямой кишки; рак соединительной ткани; рак пищеварительной системы; рак эндометрия; рак пищевода; рак глаза; рак головы и шеи; рак желудка (в том числе рак желудочно-кишечного тракта); глиобластому; гепатокарциному; гепатому; внутриэпителиальное новообразование; рак почек; рак гортани; лейкоз; рак печени; рак легких (например, мелкоклеточный рак легких, немелкоклеточный рак легких, аденокарциному легкого и плоскоклеточную карциному легкого); меланому; миелому; нейробластому; рак ротовой полости (губы, языка, рта и глотки); рак яичников; рак поджелудочной железы; рак предстательной железы; ретинобластому; рабдомиосаркому; рак прямой кишки; рак дыхательной системы; карциному слюнной железы; саркому; рак кожи; плоскоклеточный рак; рак желудка; рак яичка; рак щитовидной железы; рак матки или эндометрия; рак мочевыводительной системы; рак вульвы; лимфому, включая лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому, а также В-клеточную лимфому (включая высокодифференцированную/фоликулярную неходжкинскую лимфому (НХЛ); мелкоклеточную лимфоцитарную (SL) НХЛ; промежуточно дифференцированную/фоликулярную НХЛ; мелкоклеточную дифференцированную диффузную НХЛ; низкодифференцированную иммунобластную НХЛ; низкодифференцированную лимфобластную НХЛ; низкодифференцированную мелкоклеточную НХЛ с нерассеченными ядра-

ми; НХЛ с генерализованной лимфаденопатией; мантийноклеточную лимфому; лимфому, связанную со СПИДом; и макроглобулинемию Вальденстрема; хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ); острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ); волосатоклеточный лейкоз; хронический миелобластный лейкоз; а также другие карциномы и саркомы; и посттрансплантационное лимфопролиферативное расстройство (PTLD), а также аномальную пролиферацию сосудов, ассоциированную с факотомозами, отеками (например, связанными с опухолями головного мозга) и синдромом Мейгса, но не ограничиваются ими.

Композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) и способы, описанные в настоящем документе, можно применять к метастазирующим заболеваниям, включая раковые заболевания и/или опухоли. Термин "метастазирование" относится к распространению рака из первичного участка в другие места организма. Раковые клетки могут отрываться от первичной опухоли, проникать в лимфатические и кровеносные сосуды, циркулировать по кровотоку и расти в отдаленных очагах (метастазировать) в нормальных тканях в другом месте организма. Метастазирование может быть локальным или отдаленным. Метастазирование представляет собой последовательный процесс, возможный при условии отрыва опухолевых клеток от первичной опухоли, перемещения через кровотоки и остановки на отдаленном участке. На новом участке клетки налаживают кровоснабжение и могут расти с образованием массы, несущей угрозу для жизни. Как стимуляторные, так и ингибиторные молекулярные пути в раковой клетке регулируют это поведение и также имеют значение взаимодействия между опухолевой клеткой и клетками организма хозяина на отдаленном участке.

Метастазы можно определять при помощи отдельного или комбинированного применения магнитно-резонансной томографии (МРТ), компьютерной томографии (КТ), подсчета клеток крови и тромбоцитов, исследования функции печени, рентгеноскопии грудной клетки и остеосцинтиграфии в дополнение к отслеживанию специфических симптомов.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу лечения млекопитающего, страдающего от рака с конститутивно активным NF-κB, включающему введение млекопитающему композиции, содержащей терапевтически эффективное количество средства, которое индуцирует активность NF-κB, включая композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем документе. Средства, которые индуцируют активность NF-κB, можно вводить в комбинации с противоопухолевым лечением.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение включает способы лечения побочных эффектов, вызванных лечением рака, включающие введение композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации побочные эффекты от лечения рака включают алопецию, миелосупрессию, нефротоксичность, потерю массы тела, боль, тошноту, рвоту, диарею, запор, анемию, дистрофию, потерю волос, онемение, изменение вкусов, потеря аппетита, истончившиеся или ломкие волосы, язвы во рту, потерю памяти, геморрагии, кардиотоксичность, гепатотоксичность, ототоксичность и последующее после химиотерапии когнитивное нарушение.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу лечения млекопитающего, страдающего от повреждения нормальной ткани, которое вызвано лечением рака, включая рак с конститутивно активным NF-κB, но не ограничиваясь им, способу, включающему введение млекопитающему композиции, содержащей терапевтически эффективное количество композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанной в настоящем документе.

Старение и стресс.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение включает способы модулирования старения клеток, включающие введение композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанной в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение включает способы лечения стресса, включающие введение композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанной в настоящем документе. Настоящее изобретение также относится к способу лечения субъекта, страдающего от повреждения нормальной ткани, которое вызвано стрессом, включающему введение млекопитающему композиции, содержащей терапевтически эффективное количество композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных средств). Стресс может быть вызван любым источником, включая радиацию, ранение, отравление, инфекцию и температурный шок, но не ограничиваясь ими.

В некоторых вариантах реализации композицию, относящуюся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) можно вводить в любой момент времени перед воздействием стресса, включая приблизительно 48 ч, приблизительно 46 ч, приблизительно 44 ч, приблизительно 42 ч, приблизительно 40 ч, приблизительно 38 ч, приблизительно 36 ч, приблизительно 34 ч, приблизительно 32 ч, приблизительно 30 ч, приблизительно 28 ч, приблизительно 26 ч, приблизительно 24 ч, приблизительно 22 ч, приблизительно 20 ч, приблизительно 18 ч, приблизительно 16 ч, приблизительно 14 ч, приблизительно 12 ч, приблизительно 10 ч, приблизительно 8 ч, приблизительно 6 ч, приблизительно 4 ч, приблизительно 3 ч, приблизительно 2 ч или приблизительно 1 ч перед воздействием, но не ограничиваясь этими рамками. В некоторых вариантах реализации композицию, относящуюся к флагеллину, можно вводить в любой момент

времени после воздействия стресса, включая приблизительно 1 ч, приблизительно 2 ч, приблизительно 3 ч, приблизительно 4 ч, приблизительно 6 ч, приблизительно 8 ч, приблизительно 10 ч, приблизительно 12 ч, приблизительно 14 ч, приблизительно 16 ч, приблизительно 18 ч, приблизительно 20 ч, приблизительно 22 ч, приблизительно 24 ч, приблизительно 26 ч, приблизительно 28 ч, приблизительно 30 ч, приблизительно 32 ч, приблизительно 34 ч, приблизительно 36 ч, приблизительно 38 ч, приблизительно 40 ч, приблизительно 42 ч, приблизительно 44 ч, приблизительно 46 ч или приблизительно 48 ч после воздействия, но не ограничиваясь этими рамками.

Смягчение последствий и профилактика радиационного поражения.

В еще одних других вариантах реализации настоящее изобретение относится к лечению радиационно-ассоциированных заболеваний или повреждений. В конкретных вариантах реализации настоящее изобретение относится к смягчению или профилактике и/или защите от радиационно-ассоциированных заболеваний.

В одном из вариантов реализации изобретение относится к защите клеток от эффектов воздействия радиации. В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу защиты субъекты от радиации, включающему введение композиции, относящейся к флагеллину (и/или дополнительных средств), описанной в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации радиация представляет собой ионизирующее излучение. В некоторых вариантах реализации ионизирующее излучение является достаточной причиной для желудочно-кишечного синдрома или гематопозитического синдрома. В некоторых вариантах реализации композицию, относящуюся к флагеллину (и/или дополнительные средства), описанная в настоящем изобретении, вводят в комбинации с радиопротектантом, например антиоксидантом (например, амифостин и витамин Е), цитокином (например, фактор стволовых клеток) и т.д. В некоторых вариантах реализации композицию, относящуюся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанную в настоящем документе, вводят до, вместе с или после воздействия радиации. В некоторых вариантах реализации композицию, относящуюся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанную в настоящем документе, вводят в комбинации с фактором роста (например, фактором роста кератиноцитов), стероидом (например, 5-андростендиол), трихлор(диоксиэтилен-О,О')теллулатом аммония, средствами защиты щитовидной железы (например, йодидом калия (KI)), средствами против тошноты, средствами против диареи, анальгетиками, анксиолитиками, седативными средствами, цитокиновыми лекарственными средствами, антибиотиками, противогрибковыми средствами и/или противовирусными средствами. В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу лечения и/или смягчения последствий опосредованного апоптозом повреждения тканей у субъекта, включающему введение нуждающемуся в этом субъекту композиции, относящейся к флагеллину (и/или дополнительных средств), описанной в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации апоптоз связан с клеточным стрессом. В некоторых вариантах реализации композицию, относящуюся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанную в настоящем документе, вводят до, во время или после поражения тканей. В некоторых вариантах реализации клеточный стресс представляет собой радиацию. В некоторых вариантах реализации композицию, относящуюся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), вводят в комбинации с радиопротектантом (например, антиоксидантом (например, амифостин и витамин Е), цитокином (например, фактор стволовых клеток) и т.д.

Повреждение и смерть нормальных клеток от ионизирующего излучения представляют собой комбинацию прямого радиационно-индуцируемого повреждения подвергшихся воздействию клеток и активной генетически запрограммированной реакции клетки на радиационно-индуцируемый стресс, приводящий в результате к самоубийству или апоптозу клетки. Апоптоз играет ключевую роль в массивной потере клеток, происходящей в более радиочувствительных органах (например, система кроветворения и иммунная система, эпителий желудочно-кишечного тракта и т. д.), недостаточность которых определяет общую радиочувствительность организма. В некоторых вариантах реализации введение композиций, относящихся к флагеллину, согласно настоящему изобретению нуждающемуся в этом субъекту подавляет апоптоз в клетках. В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, согласно настоящему изобретению вводят субъекту, проходящему противоопухолевое введение радиотерапией, для защиты здоровых клеток от повреждающего воздействия лучевой терапии. Воздействие ионизирующего излучения (ИИ) может быть кратковременным или долговременным, и/или оно может применяться в виде однократных или многократных доз, и/или оно может применяться ко всему телу или локально. Настоящее изобретение в некоторых вариантах реализации относится к ядерным авариям или военным атакам, которые могут включать воздействие единичной высокой дозы тотального облучения организма (иногда с последующим долговременным отравлением радиоактивными изотопами). Это же справедливо (со строгим контролем применяемой дозы), например, в отношении предварительного лечения пациентов, которым предстоит трансплантация костного мозга, когда необходимо подготовить органы кроветворения к костному мозгу донора путем "очистки" их от предшественников клеток крови хозяина-реципиента. Лечение рака может включать многократные дозы локального облучения, которые во много раз превышают летальные дозы, если бы они применялись в качестве тотального облучения организма. Отравление или лечение радиоактивными изотопами приводит к долговременному локальному воздействию радиации на органы-мишени (например, щитовидную железу в случае ингаляции ¹²⁵I).

Дополнительно, существует много физических форм ионизирующего излучения, сильно различающихся по степени тяжести биологических эффектов.

На молекулярном и клеточном уровне радиационные частицы способны вызывать разрыв и поперечную сшивку в ДНК, белках, клеточных мембранах и других макромолекулярных структурах. Ионизирующее излучение также индуцирует вторичное повреждение клеточных компонентов, приводя к возникновению свободных радикалов и активных форм кислорода (АФК). Многочисленные системы репарации противодействуют повреждению, такие как несколько путей репарации ДНК, которые восстанавливают целостность и верность передачи информации ДНК, и антиоксидантные химические соединения и ферменты, которые поглощают свободные радикалы и АФК и восстанавливают окисленные белки и липиды. Клеточные системы контрольных точек определяют дефекты ДНК и задерживают развитие клеточного цикла, пока не будет устранено повреждение или не будет принято решение приговорить клетку к остановке роста или программируемой клеточной смерти (апоптозу). Радиация может вызывать повреждение организмов млекопитающего, варьирующееся в диапазоне от умеренных мутагенных и канцерогенных эффектов низких доз до практически мгновенной смерти от высоких доз. В целом радиочувствительность организма определяется патологическими изменениями, развивающимися в более чувствительных тканях, которые включают систему кроветворения, репродуктивную систему и различные эпителии с высокой скоростью обновления.

Острый патологический результат гамма облучения, приводящий к смерти, является различным для разных доз и может определяться недостаточностью определенных органов, которые определяют порог чувствительности организма к каждой конкретной дозе. Таким образом, летальность более низких доз происходит, например, в результате аплазии костного мозга, тогда как умеренные дозы убивают быстрее, например, путем индуцирования желудочно-кишечного (ж/к) синдрома. Очень высокие дозы радиации могут вызывать почти мгновенную смерть, вызывая нейрональную дегенерацию.

Организмы, которые пережили период острой токсичности радиации, могут страдать от долгосрочных отдаленных последствий, которые включают радиационно-индуцированные канцерогенез и фиброз, развивающиеся в подвергшихся воздействию органах (например, почке, печени или легких) в течение месяцев и лет после облучения. Клеточная ДНК является основной мишенью ИИ, которое вызывает разнообразные виды повреждения ДНК (генотоксический стресс) путем прямых и непрямых (например, на основе свободных радикалов) механизмов. Все организмы поддерживают систему репарации ДНК, способную эффективно восстанавливать поврежденную радиацией ДНК; ошибки в процессе репарации ДНК могут приводить к мутациям.

В некоторых вариантах реализации воздействие радиации, которому подвергся субъект, является последствием противоопухолевого лечения радиотерапией. Опухоли в целом более чувствительны к гамма радиации и могут быть подвергнуты воздействию многократных локальных доз облучения, которые вызывают относительно низкое повреждение нормальной ткани. Тем не менее в некоторых примерах повреждение нормальной тканей является лимитирующим фактором при применении гамма-радиации для лечения рака. Применение гамма-излучения в ходе противоопухолевой терапии с помощью традиционной трехмерной конформальной или даже более сфокусированной доставки с использованием технологии *BeamCath* также имеет дозимитирующие токсические эффекты, вызываемые кумулятивным эффектом излучения и вызывающие повреждение стволовых клеток или быстро обновляющихся нормальных тканей, таких как костный мозг и желудочно-кишечный (ж/к) тракт. Введение композиций, относящихся к флагеллину, согласно настоящему изобретению может защитить здоровые клетки пациента от радиационного повреждения, не затрагивая радиочувствительность опухолевых клеток.

В некоторых вариантах реализации субъект подвергался воздействию летальных доз радиации. При высоких дозах радиационно-индуцируемая летальность связана с так называемыми гематопозитическим и желудочно-кишечным синдромами лучевой болезни. Гемопозитический синдром характеризуется потерей гемопозитических клеток и их предшественников, делая невозможным осуществление регенерации крови и лимфоидной системы. Смерть, как правило, наступает как следствие инфекции (в результате иммуносупрессии), кровоизлияния и/или анемии. Причиной ж/к синдрома является массовая гибель клеток в эпителии кишечника, преимущественно в тонком кишечнике с последующей дезинтеграцией стенки кишечника и смертью от бактериемии и сепсиса. Гемопозитический синдром, как правило, преобладает при низких дозах радиации и приводит к более длительной отсрочке наступления смерти, чем ж/к синдром. В прошлом средства защиты от радиации представляли собой, как правило, антиоксиданты, как синтетические, так и природные. Совсем недавно цитокины и факторы роста были добавлены к списку радиопротектантов; считается, что механизм их радиозащиты является результатом облегчения последствий воздействия на регенерацию чувствительных тканей. Не существует четкого разделения между двумя группами радиопротектантов, однако некоторые цитокины индуцируют экспрессию клеточных антиоксидантных белков, таких как марганец-супероксиддисмутазы (Mn-SOD) и металлотioneина.

Степень защиты конкретного средства может быть выражена в виде фактора изменения дозы или фактора уменьшения дозы (ФИД или ФУД). ФИД определяется путем облучения субъекта, прошедшего лечение радиопротектором, и не проходившего лечения контрольных субъектов диапазоном радиационных доз и затем сравнения выживаемости или некоторых других конечных точек. ФИД обычно рассчи-

тывают для 30-дневной выживаемости (50% летальная доза при 30-дневной выживаемости (LD50/30) в группе, получавшей лекарственное средство, поделенная на LD50/30 в группе, получавшей плацебо) и дает количественную оценку защиты системы кроветворения. С целью оценки защиты желудочно-кишечной системы LD50 и ФИД рассчитывают для 6- или 7-дневной выживаемости.

Композиции, относящиеся к флагеллину, описанные в настоящем документе, обладают сильной способствующей выживанию активностью на клеточном уровне и на уровне организма в целом. В ответ на суперлетальные дозы радиации композиции, относящиеся к флагеллину, описанные в настоящем документе, могут ингибировать как желудочно-кишечный, так и гемопоэтический синдромы, которые являются основными причинами смерти от острого радиационного воздействия. Как следствие данных свойств композиции, относящиеся к флагеллину, описанные в настоящем документе, можно применять для лечения последствий воздействия естественных радиационных событий и ядерных аварий. Кроме того, композиции, относящиеся к флагеллину, описанные в настоящем документе, можно применять в комбинации с другими радиопротектантами, таким образом значительно повышая масштаб защиты от ионизирующего излучения. В отличие от традиционных средств защиты от радиации (например, поглотителей свободных радикалов) противоапоптотические средства могут не снижать первичное опосредованное радиацией повреждение, но могут действовать против вторичных явлений, включающих активные клеточные реакции на первичное повреждение, таким образом дополняя существующие линии защиты. Пифитрин-альфа, лекарственный ингибитор p53 (ключевого медиатора ответа на воздействие радиации в клетках млекопитающих), представляет собой пример этого нового класса радиопротектантов. Однако активность ингибиторов p53 ограничена осуществлением защитного действия в отношении системы кроветворения и не обладает защитным эффектом в отношении пищеварительного тракта (желудочно-кишечный синдром), таким образом снижая терапевтическую ценность этих соединений.

Композиции, относящиеся к флагеллину, описанные в настоящем документе, можно применять в качестве средств защиты от радиации для увеличения диапазона переносимых радиационных доз путем повышения радиационной устойчивости у человека выше уровней, достигаемых с помощью существующих средств (экранирование и применение существующих биозащитных средств), и значительно увеличить шансы на выживание экипажа в случае ядерной аварии или крупномасштабного всплеска солнечных космических лучей, например.

Композиции, относящиеся к флагеллину, описанные в настоящем документе, также полезны для лечения невосполнимой потери клеток, вызванной излучением низкой дозы, например, в центральной нервной системе и репродуктивных органах. Композиции, относящиеся к флагеллину, описанные в настоящем документе, можно также применять в ходе противоопухолевой химиотерапии для лечения побочных эффектов, связанных с химиотерапией, включая алопецию, миелосупрессию, нефротоксичность, потерю массы тела, боль, тошноту, рвоту, диарею, запор, анемию, дистрофию, потерю волос, онемение, изменение вкусов, потерю аппетита, истончившиеся или ломкие волосы, язвы во рту, потерю памяти, геморагии, кардиотоксичность, гепатотоксичность, ототоксичность и последующее после химиотерапии когнитивное нарушение.

В одном из вариантов реализации млекопитающее лечат по причине воздействия радиации, включающих введение млекопитающему композиции, содержащей терапевтически эффективное количество композиции, относящейся к флагеллину. Композицию, относящуюся к флагеллину, можно вводить в комбинации с одним или более радиопротектантом. Один или более радиопротектантов могут представлять собой любое средство, которое лечит эффекты от воздействия радиации, включая антиоксиданты, поглотители свободных радикалов и цитокины, но не ограничиваясь ими.

Композиции, относящиеся к флагеллину, описанные в настоящем документе, могут ингибировать радиационно-индуцированную запрограммированную клеточную смерть в ответ на повреждение в ДНК и других клеточных структурах. В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, описанные в настоящем изобретении, могут не бороться с повреждением на клеточном уровне и могут не предотвращать появление мутаций. Свободные радикалы и активные формы кислорода (АФК) являются главной причиной мутаций и другого внутриклеточного повреждения. Антиоксиданты и поглотители свободных радикалов являются эффективными в отношении предотвращения повреждения свободными радикалами. Комбинация композиции, относящейся к флагеллину, и антиоксиданта или поглотителя свободных радикалов может привести в результате к менее обширному повреждению, более высокой выживаемости и улучшенному здоровью для млекопитающих, подвергшихся воздействию радиации. Антиоксиданты и поглотители свободных радикалов, которые можно применять при практическом применении настоящего изобретения, включают тиолы, такие как цистеин, цистеамин, глутатион и билирубин; амифостин (WR-2721); витамин А; витамин С; витамин Е; и флавоноиды, такие как индийский базилик священный (*Ocimum sanctum*), ориентин и висенин, но не ограничиваются ими.

Композиции, относящиеся к флагеллину, описанные в настоящем изобретении, также можно вводить в комбинации с целым рядом цитокинов и факторов роста, которые обеспечивают защиту от радиации путем восполнения и/или защиты радиочувствительных популяций стволовых клеток. Защиту от радиации с минимальными побочными эффектами можно достигнуть путем применения фактора стволовых клеток (ФСК, лиганда c-kit), лиганда Flt-3 и фрагмента интерлейкина-1 IL-1 b-rd. Защита может

быть достигнута посредством индукции пролиферации стволовых клеток (все упомянутые цитокины) и предотвращения апоптоза (ФСК). Лечение делает возможным накопление лейкоцитов и их предшественников перед облучением, таким образом позволяя быстрее восстановить иммунную систему после облучения. ФСК эффективно спасают смертельно облученных мышей с ФИД в диапазоне 1,3-1,35 и также эффективны против желудочно-кишечного синдрома. Лиганд Flt-3 также обеспечивает мощную защиту у мышей и кроликов.

Несколько факторов, которые не являются цитокинами по природе, стимулируют пролиферацию иммуноцитов, и их можно применять в комбинации с композициями, относящиеся к флагеллину, описанными в настоящем документе. Например, 5-АЕД (5-андростендиол) представляет собой стероид, который стимулирует экспрессию цитокинов и повышает сопротивляемость к бактериальным и вирусным инфекциям. Синтетические соединения, такие как трихлор(диоксиэтилен-О,О')-теллулат аммония (AS-101), можно также применять для индуцирования секреции многочисленных цитокинов и для комбинации с композициями, относящимися к флагеллину, описанными в настоящем документе.

Факторы роста и цитокины также можно применять для обеспечения защиты против желудочно-кишечного синдрома. Фактор роста кератиноцитов (ФРК) стимулирует пролиферацию и дифференциацию в слизистой оболочке кишечника и повышает выживаемость клеток после облучения в кишечных крипах. Гемопоэтический цитокин и радиопротектант ФСК также могут увеличивать выживаемость стволовых клеток кишечника и связанную с этим краткосрочную выживаемость организма. Композиции, относящиеся к флагеллину, описанные в настоящем документе, могут защищать как от желудочно-кишечного (ж/к) синдрома, так и гематопоэтического синдрома. Подобные композиции можно применять в комбинации с одним или более ингибиторами ж/к синдрома (включая, цитокины, такие как ФСК и ФРК, но не ограничиваясь ими).

Композицию, относящуюся к флагеллину, можно вводить в любой момент времени перед воздействием радиации, включая приблизительно 48 ч, приблизительно 46 ч, приблизительно 44 ч, приблизительно 42 ч, приблизительно 40 ч, приблизительно 38 ч, приблизительно 36 ч, приблизительно 34 ч, приблизительно 32 ч, приблизительно 30 ч, приблизительно 28 ч, приблизительно 26 ч, приблизительно 24 ч, приблизительно 22 ч, приблизительно 20 ч, приблизительно 18 ч, приблизительно 16 ч, приблизительно 14 ч, приблизительно 12 ч, приблизительно 10 ч, приблизительно 8 ч, приблизительно 6 ч, приблизительно 4 ч, приблизительно 3 ч, приблизительно 2 ч или приблизительно 1 ч перед воздействием, но не ограничиваясь этими рамками. Композицию, относящуюся к флагеллину, можно вводить в любой момент времени после воздействия радиации, включая приблизительно 1 ч, приблизительно 2 ч, приблизительно 3 ч, приблизительно 4 ч, приблизительно 6 ч, приблизительно 8 ч, приблизительно 10 ч, приблизительно 12 ч, приблизительно 14 ч, приблизительно 16 ч, приблизительно 18 ч, приблизительно 20 ч, приблизительно 22 ч, приблизительно 24 ч, приблизительно 26 ч, приблизительно 28 ч, приблизительно 30 ч, приблизительно 32 ч, приблизительно 34 ч, приблизительно 36 ч, приблизительно 38 ч, приблизительно 40 ч, приблизительно 42 ч, приблизительно 44 ч, приблизительно 46 ч или приблизительно 48 ч после воздействия радиации, но не ограничиваясь этими рамками.

В различных вариантах реализации способы и композиция согласно настоящему изобретению обеспечивают лечение или профилактику связанных с радиацией нарушений, таких как острая лучевая болезнь (ОЛБ). В различных вариантах реализации лекарственные средства, описанные в настоящем документе, снижают заболеваемость или смертность популяции пациентов, подвергшихся воздействию, или ускоряют восстановление после симптомов ОЛБ. ОЛБ часто представляют как последовательность поэтапных синдромов, которые могут варьироваться в зависимости от индивидуальной радиочувствительности, типа радиации и поглощенной радиационной дозы. В целом, без ограничения теорией, степень распространения симптомов будет увеличиваться и длительность каждой фазы будет сокращаться с повышением радиационной дозы. ОЛБ может быть поделена на три стадии: продромальная стадия (так называемая стадия тошноты, рвоты, диареи (стадия N-V-D)), латентный период и разгар болезни. В различных вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем документе, можно вводить человеку на любой из этих трех стадий (т.е. композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) можно вводить человеку в ходе продромальной стадии, композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) можно вводить человеку в ходе латентного периода или композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) можно вводить человеку в ходе разгара болезни). В ходе продромальной стадии часто существует относительно быстрое наступление тошноты, рвоты и чувства общего недомогания. Применение противорвотных средств (например, оральных профилактических противорвотных средств), таких как гранисетрон ("Китрил"), ондансетрон ("Зофран") и блокаторы 5-НТЗ-рецепторов с дексаметозоном или без него, может быть показано в ситуациях, когда воздействие высоких доз радиации произошло, вероятно произойдет или неизбежно. Соответственно, в различных вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) можно вводить человеку, получающему противорвотное средство, или CBLB502 можно вводить человеку в комбинации с противорвотным средством. Например, композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) можно также добавлять к следующим схемам приема противорвотных средств: Ондансетрон: перво-

начально 0,15 мг/кг внутривенно (в/в); вариант непрерывной в/в дозы состоит из дозы в 8 мг с последующим введением 1 мг/ч в течение следующих 24 ч. Пероральная доза представляет собой 8 мг каждые 8 ч по мере необходимости, или гранисетрон (лекарственная форма для перорального приема): доза, как правило, составляет первоначально 1 мг, затем повторяется через 12 ч после первой дозы. Альтернативно, можно принять 2 мг как одну дозу. В/в доза зависит от массы тела; как правило, 10 мкг/кг массы тела.

Латентный период у пациента может протекать относительно бессимптомно. Продолжительность этой стадии зависит от дозы. Латентная стадия является самой долгой перед депрессией костного мозга и гемопоэтическим синдромом и может варьироваться от 2 до 6 недель. Латентный период несколько короче перед желудочно-кишечным синдромом, длительностью от более дней до недели. Самым коротким из всех является период перед нейроваскулярным синдромом, длительностью только в несколько часов. Данные промежутки времени варьируются и могут быть изменены при наличии другого заболевания или повреждения. Разгар болезни проявляется клиническими симптомами, связанными с поврежденной системой жизненно важных органов (костного мозга, кишечника, нейроваскулярной системы). В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения относится к уменьшению последствий или защите клеток от эффектов воздействия радиации. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения относится к способу уменьшению последствий и/или защиты пациента от радиации, включающему введение композиций, относящихся к флагеллину, (и/или дополнительных средств). В некоторых вариантах реализации радиация представляет собой ионизирующее излучение. В некоторых вариантах реализации ионизирующее излучение является достаточной причиной для желудочно-кишечного синдрома или гематопоэтического синдрома. В некоторых вариантах реализации острая лучевая болезнь (ОЛБ) включает один или более желудочно-кишечный синдром; гематопоэтический синдром; нейроваскулярный синдром, опосредованное апоптозом повреждение тканей, при котором апоптоз необязательно связан с клеточным стрессом; и повреждение тканей в результате индуцированного ионизирующим излучением апоптоза.

Гемопоэтический синдром (также называемый костномозговым синдромом) характеризуется потерей гемопоэтических клеток и их предшественников, делая невозможным осуществление регенерации крови и лимфоидной системы. Этот синдром часто характеризуется резким сокращением числа клеток крови, т.е., апластической анемией. Это может привести к инфекциям (например, оппортунистическим инфекциям) по причине низкого количества лейкоцитов, кровотечению по причине недостатка тромбоцитов и анемии по причине небольшого количества эритроцитов в циркулирующей крови. Эти изменения можно обнаружить с помощью анализов крови после получения острой дозы облучения всего тела. Обычные травмы и ожоги в результате взрывной волны осложнены плохим заживлением ран, вызванным гемопоэтическим синдромом, что увеличивает смертность. Смерть может наступить как следствие инфекции (в результате иммуносупрессии), кровоизлияния и/или анемии. Гемопоэтический синдром, как правило, преобладает при низких дозах радиации и приводит к более длительной отсрочке наступления смерти, чем ж/к синдром.

Причиной желудочно-кишечного синдрома является массовая гибель клеток в эпителии кишечника, преимущественно в тонком кишечнике с последующей дезинтеграцией стенки кишечника и смертью от бактериемии и сепсиса. Симптомы этой формы радиационного повреждения включают тошноту, рвоту, потерю аппетита, потерю абсорбирующей способности, кровоизлияние в обнаженных областях и абдоминальную боль. Иллюстративные примеры системных эффектов желудочно-кишечного синдрома включают нарушение питания, дегидратацию, почечную недостаточность, анемию, сепсис и т.д. Без лечения (включая, например, трансплантацию костного мозга) смерть является обычным результатом (например, от инфекции, вызванной кишечными бактериями). В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) можно применять в комбинации с трансплантатом костного мозга. В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) можно применять в комбинации с одним или более ингибиторами ж/к синдрома и/или любым из дополнительных средств, описанных в настоящем документе.

Нейроваскулярный синдром проявляется неврологическими симптомами, такими как головокружение, головная боль или сниженный уровень сознания, наблюдающийся в пределах от минут до более часов, и отсутствием тошноты. Дополнительные симптомы включают крайнюю нервозность и спутанность сознания; сильную тошноту, рвоту и водянистую диарею; потерю сознания и чувство жжения кожи. Нейроваскулярный синдром, как правило, смертелен.

В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложен способ снижения риска смерти после воздействия облучения, включающий введение эффективного количества композиций, относящихся к флагеллину, (и/или дополнительных средств). В некоторых вариантах реализации радиация является потенциально смертельной и в некоторых случаях появляется как результат радиационной катастрофы. В различных вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) вводят в течение приблизительно 25 ч после воздействия радиации. В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложен способ снижения риска смерти после воздействия потенциально смертельного облучения, появляющегося в результате радиационной катастрофы, включающий введение композиций, относящихся к флагеллину, (и/или дополнительных средств) в течение приблизительно 25 ч после воздействия радиации.

В различных вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) вводят пациенту, который подвергся воздействию высокой дозы радиации, а именно дозе облучения всего тела. В различных вариантах реализации высокая доза радиации может не быть равномерной. В различных вариантах реализации ОЛБ является результатом высокой дозы радиации. В различных вариантах реализации высокая доза радиации составляет приблизительно 2,0 Гр, или приблизительно 2,5 Гр, или приблизительно 3,0 Гр, или приблизительно 3,5 Гр, или приблизительно 4,0 Гр, или приблизительно 4,5 Гр, или приблизительно 5 Гр, или приблизительно 10 Гр, или приблизительно 15 Гр, или приблизительно 20 Гр, или приблизительно 25 Гр, или приблизительно 30 Гр. В различных вариантах реализации высокая доза радиации составляет от приблизительно 5 до приблизительно 30 Гр, или приблизительно 10 до 25 Гр, или приблизительно 15 до 20 Гр. В некоторых вариантах реализации высокую дозу радиации оценивают одним или более способами физической дозиметрии и/или биологической дозиметрии (например, мультипараметрическая оценка дозы облучения), цитогенетическими способами (например, хромосомным анализом, например, образцов крови (включая в качестве неограничивающего примера анализ дицентрических хромосом)). В различных вариантах реализации дозы тотального облучения тела можно подразделить на сублетальные (<2 Гр), потенциально летальные (2-10 Гр) и сверхлетальные (>10 Гр).

Реперфузионные повреждения.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к способу лечения эффектов от реперфузии на ткани субъекта, включающему введение композиций, относящихся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанных в настоящем документе. Композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем документе, можно вводить в комбинации с антиоксидантом, таким как, например, амифостин или витамин Е.

Причиной реперфузии может быть повреждение, которое может представлять собой ишемию или гипоксию. Ишемия может быть результатом такого состояния, как, например, тахикардия, инфаркт, гипотензия, эмболия, тромбоемболия (сгусток крови), серповидно-клеточная анемия, локализованное давление на конечности тела и опухолей. Гипоксию можно выбрать из гипоксической гипоксии (отравление угарным газом, апноэ во время сна, хроническая обструктивная болезнь легких, остановка дыхания, шунты), анемической гипоксии (низкое содержание O_2), гипоксической гипоксии и гистотоксической гипоксии. Локализованное давление может быть обусловлено жгутом.

Композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем документе, можно вводить до, совместно или после притока кислорода. Ткань может представлять собой, например, ж/к тракт, легкое, почку, печень, сердечно-сосудистую систему, эндотелий кровеносных сосудов, центральную нервную систему, периферическую нервную систему, мышцу, кость и волосяной фолликул.

Реперфузия может повредить части тела при восстановлении кровоснабжения в части тела после повреждения. Эффекты от реперфузии могут намного сильнее повреждать часть тела, чем сама травма (повреждение). Существует несколько механизмов и медиаторов реперфузии, включая, например, свободные кислородные радикалы, внутриклеточное перенасыщение кальцием и эндотелиальную дисфункцию. Избыточные количества активных форм кислорода при введении в ранее пораженную часть тела подвергаются последовательному восстановлению, приводящему к образованию свободных кислородных радикалов. Активные окисляющие радикалы, такие как супероксид-анион, гидроксильный радикал и пероксинитрит, могут быть выработаны в течение первых более минут после восстановления потока к части тела и могут играть ключевую роль в развитии реперфузионного повреждения. Свободные кислородные радикалы также могут быть получены из других источников, кроме как в результате восстановления молекулярного кислорода. Эти источники включают ферменты, такие как ксантиноксидаза, цитохромоксидаза и циклооксигеназа, и окисление катехоламинов.

Реперфузия также является активным стимулом для активации и аккумуляции нейтрофилов, которые, в свою очередь, служат активными стимулами для выработки активных форм кислорода. Конкретно, основными продуктами респираторного взрыва нейтрофилов являются сильные окислители, включая пероксид водорода, свободные кислородные радикалы и гипохлорит. Нейтрофилы представляют собой наиболее многочисленный тип фагоцитов, в норме представляющих 50-60% от общего количества циркулирующих лейкоцитов, и, как правило, являются первыми клетками, прибывающими на место поврежденной части тела. Свободные кислородные радикалы наносят повреждения, вступая в реакцию с полиненасыщенными жирными кислотами, что приводит к образованию липидных пероксидов и гидропероксидов, которые повреждают часть тела и нарушают функцию мембраносвязанных ферментативных систем. Свободные радикалы стимулируют эндотелиальное высвобождение фактора активации тромбоцитов и хемокинов, таких как фактор активации нейтрофилов, лиганд 1 хемокина (мотив С-Х-С) и лиганд 1 хемокина (мотив С-Х-С), который привлекает еще больше нейтрофилов и усиливает выработку окисляющих радикалов и степень реперфузионного повреждения. Активные формы кислорода также поглощают оксид азота, увеличивая повреждение эндотелия и дисфункцию клеток ткани. В дополнение к повышенной выработке существует также относительная недостаточность в эндогенных поглощающих окислители ферментах, что далее увеличивает опосредованную свободными радикалами сердечную дис-

функцию.

Реперфузия может дополнительно привести к выраженной дисфункции эндотелиальных клеток. Эндотелиальная дисфункция облегчает выражение протромботического фенотипа, характеризующегося активацией тромбоцитов и нейтрофилов, важными медиаторами реперфузии. При контакте нейтрофилов с дисфункциональным эндотелием они активируются, и сквозь серию хорошо определенных этапов (роллинг, плотное прилипание и трансмиграция) они мигрируют в области тканевого повреждения через соединения эндотелиальных клеток в качестве части врожденного иммунного ответа.

Изменения в гомеостазе внутриклеточного кальция играют важную роль в развитии реперфузии. Реперфузия может быть связана с повышением в уровне внутриклеточного кальция; этот эффект может быть связан с повышенным сарколеммным поступлением кальция через кальциевые каналы L-типа или может быть вторичным по отношению к изменениям в циркуляции кальция в саркоплазматическом ретикулуме. В дополнение к внутриклеточной перегрузке кальцием изменения в чувствительности миофиламентов к кальцию подозревают в причастности к реперфузии. Активация кальций-зависимой протеазы (кальпаин I) с протеолизом миофибрил в результате подчеркивает реперфузионное повреждение, как это делает протеолиз тропонина.

Реперфузия клеток ткани, подвергшихся повреждению, имеет измененный клеточный метаболизм, который, в свою очередь, вносит вклад в замедление восстановления функции. Например, повреждение может индуцировать анаэробный метаболизм в клетке с общей выработкой лактата. Выработка лактата продолжается в ходе реперфузии, предполагая задержку в восстановлении нормального аэробного метаболизма. Аналогично активность митохондриальной пируватдегидрогеназы (ПДГ) может быть ингибирована до 40% после повреждения и может оставаться подавленной в течение до 30 мин после реперфузии.

Каждое из этих событий в ходе реперфузии может приводить к стрессу у клеток ткани и к запрограммированной клеточной смерти (апоптозу) и некрозу клеток ткани. Апоптоз в норме функционирует, чтобы "очистить" ткани от травмированных и генетически поврежденных клеток, тогда как цитокины служат для мобилизации защитной системы организма против патогена. Однако в условиях тяжелого повреждения оба механизма ответа на стресс могут сами по себе действовать как причины смерти. В различных вариантах реализации эффекты реперфузии могут быть вызваны повреждением тела. Причиной повреждения может быть ишемия, гипоксия, инфаркт или эмболия. Лечение повреждения может привести к реперфузии и дополнительному повреждению части тела.

Ишемия может представлять собой абсолютный или относительный недостаток кровоснабжения части тела. Относительный недостаток может представлять собой несоответствием, каким бы малым оно не было, количества крови, поступающей (доставка кислорода) в часть тела, по сравнению с количеством крови, необходимым части тела для адекватной оксигенации. Ишемия может также представлять собой неадекватный поток крови в часть тела, обусловленный сужением или блокадой кровяных сосудов, снабжающих эту часть тела, и может повлиять на любую часть тела. Недостаточное кровоснабжение делает часть тела гипоксической или, если кислород совсем не поступает, аноксической. Это может вызвать некроз. Механизмы ишемии могут сильно варьироваться. Например, причиной ишемии любого компонента тела может быть тахикардия (аномально быстрое биение сердца), атеросклероз (нагруженная липидами бляшка блокирует просвет артерий), гипотония (пониженное кровяное давление при септическом шоке, сердечная недостаточность), тромбоэмболии (сгустки крови), наружное сжатие кровеносных сосудов (опухоль), эмболии (инородные тела в кровотоке, например эмболия амниотической жидкостью), серповидно-клеточная анемия (гемоглобин аномальной формы), инфаркты, перегрузки, которые ограничивают поток крови и заставляют кровь течь в конечности тела, локализованное воздействие экстремального холода по причине обморожения, льда, неправильной компрессионной терапии холодом и любая другая сила, которая ограничивает поток крови к конечностям, такая как жгут. Может потребоваться сила для ограничения потока крови в конечности из-за тяжелых рваных ран, резаных ран, колотой раны, такой как ножевое ранение, размозжений из-за травмы от удара тупым предметом и пулевого ранения по причине огнестрельного выстрела или осколочные ранения. Ишемия может быть признаком сердечно-сосудистых заболеваний, ишемического колита, транзиторных ишемических атак, острых нарушений мозгового кровообращения, острого повреждения почек, разорванного артериовенозного врожденного порока развития и окклюзионного заболевания периферических артерий.

Гипоксия может представлять собой недостаточность адекватного снабжения кислородом. Гипоксия может представлять собой патологическое состояние, при котором тело в целом (генерализованная гипоксия) или область тела (тканевая гипоксия) испытывают недостаток в адекватном снабжении кислородом. Колебание в уровнях артериального кислорода может быть обусловлено несоответствием между снабжением и потребностью в кислороде у частей тела. Абсолютный недостаток снабжения кислородом называется аноксией. Гипоксия может представлять собой гипоксическую гипоксию, анемическую гипоксию, гипоксическую гипоксию, гистотоксическую гипоксию и ишемическую гипоксию.

Гипоксическая гипоксия может представлять собой неадекватное снабжение кислородом тела как целого, вызванное низким парциальным давлением кислорода в артериальной крови. Гипоксическая гипоксия может быть обусловлена низким парциальным давлением атмосферного кислорода, таким как на

большой высоте, заменой кислорода в дыхательной смеси модифицированной атмосферы, такой как канализация, намеренной заменой кислорода как при использовании в рекреационных целях закиси азота, снижением кислородного насыщения крови из-за апноэ во время сна, или гипопноэ, неадекватной легочной вентиляции, такой как хроническая обструктивная болезнь легких или остановка дыхания, анатомическими или механическими шунтами в малом легочном круге кровообращения или шунтом справа налево в сердце и легком. Шунты могут вызывать коллапс альвеол, которые все еще перфузированы, или блок в вентиляции области легкого. Шунты могут мешать вентиляции крови, предназначенной для легочной системы, и предотвращать газовый обмен, потому что кровяные сосуды опустошаются в левый желудочек и бронхиальную циркуляцию, которая снабжает бронхи кислородом.

Анемическая гипоксия может представлять собой случай, когда общее содержание кислорода снижено, но артериальное давление кислорода находится в норме. Гипоксическая гипоксия представляет собой случай, когда крови не удается доставить кислород к частям тела-мишеням. Причиной гипоксической гипоксии может быть отравление угарным газом, который ингибирует способность гемоглобина высвобождать связанный с ним кислород, метгемоглобинемия, аномальный гемоглобин, который накапливается в крови. Гистотоксическая гипоксия может быть обусловлена неспособностью эффективно использовать кислород из-за неработающих окислительно фосфорилирующих ферментов.

Инфаркт представляет собой тип патологического состояния, которое может вызвать ишемию. Инфаркт может представлять собой макроскопическую область некротической ткани, образование которой вызвано потерей адекватного снабжения кровью из-за окклюзии. Инфаркт может быть белым инфарктом, состоящим из тромбоцитов, и вызывать некроз в тканях органов, таких как сердце, селезенка и почки. Инфаркт может быть красным инфарктом, состоящим из эритроцитов и нитей фибрина в тканях органов, таких как легкое. Болезни, связанные с инфарктом, могут включать инфаркт миокарда, легочную эмболию, острое нарушение мозгового кровообращения (инсульт), острую почечную недостаточность, окклюзионную болезнь периферических артерий (примером является гангрена), антифосфолипидный синдром, сепсис, гигантоклеточный артрит, грыжу и заворот кишечника.

Эмболия представляет собой тип патологического состояния, которое может вызвать ишемию. Эмболия может представлять собой объект, который передвигается из одной части тела и вызывает появление окклюзии или закупорки кровеносного сосуда в другой части тела. Эмболия может представлять собой тромбоземболию, жировую эмболию, воздушную эмболию, септическую эмболию, тканевую эмболию, эмболию инородным телом, эмболию амниотической жидкостью. Тромбоземболия может представлять собой кровяной сгусток, который полностью или частично отошел от места тромбоза. Жировая эмболия может представлять собой эндогенные жировые ткани, которые просочились в кровоток. Перелом костей представляет собой один из примеров просачивания жировой ткани в разорванные сосуды и артерии. Воздушная эмболия может представлять собой разрыв альвеол и вдыхаемый воздух, который просачивается в кровяные сосуды. Прокол подключичной вены или внутривенная терапия являются примерами просачивания воздуха в кровяные сосуды. Газовая эмболия может представлять собой газы, такие как азот и гелий, потому что являются нерастворимыми и образующими мелкие пузырьки в крови.

Фармацевтически приемлемые соли и вспомогательные вещества.

Композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в данном документе, могут обладать функциональной группой с достаточными основными свойствами, которая может реагировать с неорганической или органической кислотой, или карбоксильной группой, которая может реагировать с неорганическим или органическим основанием, с образованием фармацевтически приемлемой соли. Фармацевтически приемлемая соль присоединения кислоты образуется из фармацевтически приемлемой кислоты, как это хорошо известно в данной области техники. Подобные соли включают фармацевтически приемлемые соли, перечисленные, например, в *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2-19 (1977) и *The Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection, and Use*. P.H. Stahl and C.G. Wermuth (eds.), Verlag, Zurich (Switzerland) 2002, которые полностью включены в данное описание посредством ссылки.

В качестве неограничивающего примера фармацевтически приемлемые соли включают сульфат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, иодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, гентизинат, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат, камфорсульфонат, памоат, фенилацетат, трифторацетат, акрилат, хлорбензоат, динитробензоат, гидроксibenзоат, метоксибензоат, метилбензоат, о-ацетоксибензоат, нафтаден-2-бензоат, изобутират, фенилбутират, α -гидроксibuтират, бутин-1,4-дикарбоксилат, гексин-1,4-дикарбоксилат, капрат, каприлат, циннамат, гликолат, гептаноат, гиппурат, малат, гидроксималеат, малонат, манделат, мезилат, никотинат, фталат, терафталат, пропионат, пропионат, фенилпропионат, себацинат, суберат, п-бромбензолсульфонат, хлорбензолсульфонат, этилсульфонат, 2-гидроксиэтилсульфонат, метилсульфонат, нафталин-1-сульфонат, нафталин-2-сульфонат, нафталин-1,5-сульфонат, ксиленсульфонат и тартрат.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" также относится к соли композиций согласно настоящему изобретению, имеющей кислую функциональную группу, такую как карбоксильная функциональная группа, и основание. Подходящие основания включают (но не ограничиваются ими) гидроксиды щелочных металлов, таких как натрий, калий и литий; гидроксиды щелочноземельных металлов, таких как кальций и магний; гидроксиды других металлов, таких как алюминий и цинк; аммиак и органические амины, такие как незамещенные или гидроксизамещенные моно-, ди- или триалкиламины, дициклогексиламин; трибутиламин; пиридин; N-метил, N-этиламин; диэтиламин; триэтиламин; моно-, бис- или трис-(2-ОН-низшие алкиламины), такие как моно-, бис- или трис-(2-гидроксиэтил)амин, 2-гидрокси-трет-бутиламин или трис-(гидроксиметил)метиламин, N,N-ди-низший алкил-N-(гидроксил-низший алкил)амины, такие как N,N-диметил-N-(2-гидроксиэтил)амин или три(2-гидроксиэтил)амин; N-метил-D-глюкамин и аминокислоты, такие как аргинин, лизин и тому подобное. В некоторых вариантах реализации композиции, описанные в данном документе, находятся в форме фармацевтически приемлемой соли.

Дополнительно любые композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в данном документе, можно вводить субъекту в виде компонента композиции, которая содержит фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель. Подобные композиции могут необязательно содержать подходящее количество фармацевтически приемлемого вспомогательного вещества, так чтобы обеспечить получение лекарственной формы для надлежащего введения. Фармацевтические вспомогательные вещества могут представлять собой жидкости, такие как вода и масла, включая нефтяные масла, масла животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и тому подобное. Фармацевтические вспомогательные вещества могут представлять собой, например, солевой раствор, аравийскую камедь, желатин, крахмальную пасту, тальк, кератин, коллоидный диоксид кремния, мочевины и т.п. Кроме того, можно применять вспомогательные стабилизаторы, загустители, смазывающие агенты и красители. В одном варианте реализации фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества являются стерильными при введении субъекту. Вода является удобным вспомогательным веществом при внутривенном введении средства, описанного в настоящем документе. Растворы хлорида натрия, и водные растворы декстрозы и растворы глицерина также можно использовать в качестве жидких вспомогательных веществ, в частности, для инъекционных растворов. Подходящие фармацевтические вспомогательные вещества также включают крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, солод, рис, муку, мел, силикагель, стеарат магния, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропиленгликоль, воду, этанол и т.п. Любое средство, описанное в настоящем документе, при желании, может также содержать незначительные количества увлажнителей или эмульгаторов или pH-буферных агентов.

Состав композиций, введение, дозы и схемы лечения.

Настоящее изобретение включает описанные композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) в различных составах. Любая композиция, относящаяся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанная в настоящем документе, может принимать форму растворов, суспензий, эмульсий, капель, таблеток, пилюль, драже, капсул, капсул с жидкостью, порошков, составов с замедленным высвобождением, суппозиториях, эмульсий, аэрозолей, спреев, суспензий или любую другую форму, пригодную для применения. В одном из вариантов реализации композиции представлена в форме капсулы (см., например, патент США № 5698155). Другие примеры подходящих фармацевтических вспомогательных веществ описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences, 1447-1676 (Alfonso R. Gennaro eds., 19th ed. 1995), включенной в настоящий документ посредством ссылки.

При необходимости, композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) могут также содержать сольбилизирующий агент. Кроме того, средства можно доставлять с помощью подходящего носителя или устройства для доставки, известного в данной области техники. Средства для комбинированной терапии, описанные в настоящем документе, можно совместно доставлять в одном носителе или устройстве для доставки. Композиции для введения могут необязательно включать местный анестетик, такой как, например, лидокаин, для уменьшения боли в месте введения инъекции.

Составы, содержащие композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) согласно настоящему изобретению могут быть удобно представлены в виде единичных дозированных лекарственных форм и их можно получать любым из способов, хорошо известных в области фармации. Подобные способы обычно включают этап смешивания терапевтических средств с носителем, который состоит из одного или более вспомогательных ингредиентов. Как правило, препараты готовят путем равномерного и тщательного смешивания терапевтического средства с жидким носителем, тонкодисперсным твердым носителем или ими обоими, а затем, при необходимости, формования продукта в дозированные лекарственные формы требуемого состава (например, влажные или сухие гранулированные порошки, порошковые смеси и т.д. с последующим таблетированием с помощью традиционных способов, известных в данной области техники).

В одном из вариантов реализации состав на основе композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанной в настоящем документе, получают в соответствии с обычными процедурами, поскольку композиция адаптирована для способа введения, описанного в настоящем документе.

Пути введения включают, например, внутрикожный, внутримышечный, внутривенный, подкожный, интраназальный, эпидуральный, пероральный, сублингвальный, интраназальный, интрацеребральный, интравагинальный, трансдермальный, ректальный, посредством ингаляции или местный, в частности в уши, нос, глаза или на кожу. В некоторых вариантах реализации введение осуществляют перорально или путем парентеральной инъекции. Способ введения может быть оставлен на усмотрение практикующего врача, и он частично зависит от места проявления медицинского состояния. В большинстве случаев введение приводит к высвобождению любого средства, описанного в настоящем документе, в кровоток.

Любую композицию, относящуюся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанную в настоящем документе, можно вводить перорально. Подобные композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные агенты) также можно вводить любым другим удобным способом, например путем внутривенной инфузии или болюсной инъекции, путем поглощения через эпителиальные или кожно-слизистые оболочки (например, слизистую оболочку рта, слизистую прямой кишки и кишечника и т.д.), и можно вводить совместно с другим биологически активным средством. Введение может быть системным или местным. Известны различные системы доставки, например инкапсулирование в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, капсулы и т.д., которые можно использовать для введения.

В конкретных вариантах реализации может потребоваться местное введение в область, нуждающуюся в лечении.

В одном из вариантов реализации состав на основе композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных агентов), описанной в настоящем документе, получают в соответствии с обычными процедурами, поскольку композиция адаптирована для перорального введения людям. Композиции для перорального введения могут быть, например, в форме таблеток, леденцов, водных или масляных суспензий, гранул, порошков, эмульсий, капсул, сиропов или эликсиров. Композиции для перорального введения могут содержать один или более агентов, например подсластители, такие как фруктоза, аспартам или сахарин; ароматизаторы, такие как мята, масло грушанки или вишня; красители; а также консерванты для получения фармацевтически приемлемого препарата. Кроме того, в форме таблетки или пилюли композиции могут быть покрыты оболочкой с целью задержки распада и абсорбции в желудочно-кишечном тракте и, таким образом, обеспечения пролонгированного действия в течение более длительного периода времени. Для композиций для перорального введения также можно применять избирательно проницаемые мембраны, окружающие осмотически активное соединение, вытесняющее композицию, относящуюся к флагеллину (и/или дополнительные агенты), описанную в настоящем документе. В этих платформах жидкость из среды, окружающей капсулу, всасывается вытесняющим соединением, которое набухает, вытесняя средство или композицию, содержащую средство, через отверстие. Данные платформы доставки могут обеспечивать профиль доставки практически нулевого порядка в отличие от зубчатых профилей составов с немедленным высвобождением. Можно также применять материал с отсроченным высвобождением, например моностеарат глицерина или стеарат глицерина. Пероральные композиции могут включать стандартные вспомогательные вещества, например маннитол, лактозу, крахмал, стеарат магния, сахарин натрия, целлюлозу и карбонат магния. В одном из вариантов реализации вспомогательные вещества имеют фармацевтическую степень чистоты. Суспензии, в дополнение к активным соединениям, могут содержать суспендирующие агенты, например этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбитан и сложные эфиры сорбитана, микрокристаллическую целлюлозу, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар, трагакантовую камедь и т.п. и их смеси.

Дозированные лекарственные формы, подходящие для парентерального введения (например, внутривенной, внутримышечной, внутривенной, подкожной и внутрисуставной инъекции и инфузии), включают, например, растворы, суспензии, дисперсии, эмульсии и т.п. Их также можно производить в виде стерильных твердых композиций (например, лиофилизированной композиции), которые можно растворять или суспендировать в стерильной среде для инъекций непосредственно перед применением. Они могут содержать, например, суспендирующие или диспергирующие агенты, известные в данной области техники.

Дозировка любой композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанной в настоящем документе, а также схема приема может зависеть от различных параметров, включая заболевание, которое лечат, общее состояние здоровья субъекта и усмотрение лечащего врача, но не ограничиваясь ими. Любое средство, описанное в настоящем документе, можно вводить до (например, за приблизительно 5 мин, приблизительно 15 мин, приблизительно 30 мин, приблизительно 45 мин, приблизительно 1 ч, приблизительно 2 ч, приблизительно 4 ч, приблизительно 6 ч, приблизительно 12 ч, приблизительно 24 ч, приблизительно 48 ч, приблизительно 72 ч, приблизительно 96 ч, приблизительно 1 неделю, приблизительно 2 недели, приблизительно 3 недели, приблизительно 4 недели, приблизительно 5 недель, приблизительно 6 недель, приблизительно 8 недель или приблизительно 12 недель), одновременно с или после (например, после приблизительно 5 мин, приблизительно 15 мин, приблизительно 30 мин, приблизительно 45 мин, приблизительно 1 ч, приблизительно 2 ч, приблизительно 4 ч, приблизительно 6 ч, приблизительно 12 ч, приблизительно 24 ч, приблизительно 48 ч, приблизительно 72 ч, приблизительно 96 ч, приблизительно 1 неделю, приблизительно 2 недели, приблизительно 3 недели, при-

близительно 4 недели, приблизительно 5 недель, приблизительно 6 недель, приблизительно 8 недель или приблизительно 12 недель) введения дополнительного терапевтического средства субъекту, нуждающемуся в этом. В различных вариантах реализации любое средство, описанное в настоящем документе, вводят с интервалом приблизительно 1 мин, с интервалом приблизительно 10 мин, с интервалом приблизительно 30 мин, с интервалом менее приблизительно 1 ч, с интервалом приблизительно 1 ч, с интервалом от приблизительно 1 до приблизительно 2 ч, с интервалом от приблизительно 2 до приблизительно 3 ч, с интервалом от приблизительно 3 до приблизительно 4 ч, с интервалом от приблизительно 4 до приблизительно 5 ч, с интервалом от приблизительно 5 до приблизительно 6 ч, с интервалом от приблизительно 6 до приблизительно 7 ч, с интервалом от приблизительно 7 до приблизительно 8 ч, с интервалом от приблизительно 8 до приблизительно 9 ч, с интервалом от приблизительно 9 до приблизительно 10 ч, с интервалом от приблизительно 10 до приблизительно 11 ч, с интервалом от приблизительно 11 до приблизительно 12 ч, с интервалом не более приблизительно 24 ч или с интервалом не более 48 ч.

Количество композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанной в настоящем документе, которое смешивают с материалом носителя для получения однократной дозировки, может сильно меняться в зависимости от субъекта, проходящего лечение, и конкретного способа введения. Для выявления оптимальных диапазонов доз можно использовать анализы *in vitro* или *in vivo*.

В целом, дозы, которые можно использовать, известны специалистам в данной области техники. Например, дозы можно определить в соответствии со справочником Physicians' Desk Reference, 66th Edition, PDR Network; 2012 Edition (December 27, 2011), содержание которого полностью включено в настоящее описание посредством ссылки. Дозировка любой композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанной в настоящем документе, может зависеть от факторов, включая тяжесть состояния, необходимость лечения или профилактики состояния и возраст, масса тела и состояние здоровья субъекта, подвергаемого лечению. Дополнительно, фармакогеномная информация (влияние генотипа на фармакокинетический, фармакодинамический профиль или профиль эффективности терапевтического средства) о конкретном субъекте может влиять на используемую дозировку. Кроме того, точные отдельные дозировки можно в некоторой степени корректировать в зависимости от целого ряда факторов, включая специфическую комбинацию вводимых средств, время введения, способ введения, природу состава, скорость выведения, конкретное заболевание, которое лечат, тяжесть нарушения и анатомическое расположение нарушения. Можно ожидать наличие некоторых вариаций в дозировке.

В общем случае при пероральном введении млекопитающему дозировка любой композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанной в настоящем документе, может составлять от приблизительно 0,001 до приблизительно 100 мг/кг/день, от приблизительно 0,01 до приблизительно 50 мг/кг/день или от приблизительно 0,1 до приблизительно 10 мг/кг/день. При пероральном введении человеку дозировка любого средства, описанного в настоящем документе, обычно составляет от приблизительно 0,001 до приблизительно 1000 мг/день, от приблизительно 1 до приблизительно 600 мг/день или от приблизительно 5 до приблизительно 30 мг/день.

При введении любой композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанной в настоящем документе, посредством парентеральной инъекции дозировка обычно составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 250 мг/день, от приблизительно 1 до приблизительно 20 мг/день или от приблизительно 3 до приблизительно 5 мг/день. Инъекции можно делать до четырех раз в день. В общем случае при пероральном или парентеральном введении дозировка любого средства, описанного в настоящем документе, обычно составляет от приблизительно 0,1 до приблизительно 1500 мг/день, или от приблизительно 0,5 до приблизительно 10 мг/день, или от приблизительно 0,5 до приблизительно 5 мг/день. Можно вводить дозировку до приблизительно 3000 мг/день.

В другом варианте реализации изобретения доставку можно осуществлять в везикуле, в частности в липосоме (см. Langer, 1990, Science, 249:1527-1533; Treat et al., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, p. 353-365 (1989).

Любую композицию, относящуюся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанную в настоящем документе, можно вводить с помощью средств контролируемого высвобождения или замедленного высвобождения или с помощью устройств для доставки, хорошо известных средним специалистам в данной области техники. Примеры включают, но не ограничиваются ими, средства и устройства, описанные в патентах США № 3845770; 3916899; 3536809; 3598123; 4008719; 5674533; 5059595; 5591767; 5120548; 5073543; 5639476; 5354556 и 5733556, каждый из которых полностью включен в настоящее описание посредством ссылки. Такие лекарственные формы могут быть пригодны для применения для обеспечения контролируемого или замедленного высвобождения одного или более активных ингредиентов с использованием, например, гидроксипропилметилцеллюлозы, других полимерных матриц, гелей, проницаемых мембран, осмотических систем, многослойных покрытий, микрочастиц, липосом, микросфер или их комбинации с целью обеспечения требуемого профиля высвобождения в различных пропорциях. Подходящие составы с контролируемым или замедленным высвобождением, известные специалистам в данной области техники, включая описанные в настоящем документе, можно легко выбрать для применения с активными ингредиентами средств, описанных в настоящем документе. Таким образом, согласно настоящему изобретению предложены единичные дозированные лекарственные фор-

мы, подходящие для перорального применения, такие как таблетки, капсулы, гелевые капсулы и капсуловидные таблетки, но не ограничиваясь только ими, приспособленные для контролируемого или замедленного высвобождения. Контролируемое или замедленное высвобождение активного ингредиента можно стимулировать с помощью различных условий, включая изменения pH, изменения температуры, стимуляцию светом соответствующей длины волны, концентрацией или наличием ферментов, концентрацией или наличием воды или другими физиологическими условиями или соединениями, но не ограничиваясь только ими.

В другом варианте реализации можно применять полимерные материалы (см. *Medical Applications of Controlled Release*, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance*, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, 1983, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61, см. также Levy et al., 1985, *Science*, 228:190; Daring et al., 1989, *Ann. Neurol.* 25:351; Howard et al., 1989, *J. Neurosurg.* 71:105). В другом варианте реализации систему с контролируемым высвобождением можно поместить вблизи мишеней, подвергаемой лечению, следовательно, требуется ввести только часть системной дозы (см., например, Goodson, in *Medical Applications of Controlled Release*, ранее, vol. 2, p. 115-138 (1984)). Можно применять другие системы с контролируемым высвобождением, обсуждаемые в обзоре Langer, 1990, *Science*, 249:1527-1533).

Любую композицию, относящуюся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанную в настоящем документе, можно независимо вводить один-четыре раза в день, или один-четыре раза в месяц, или один-шесть раз в год, или раз в два, три, четыре или пять лет. Продолжительность введения может составлять приблизительно один день или приблизительно один месяц, приблизительно два месяца, приблизительно три месяца, приблизительно шесть месяцев, приблизительно один год, приблизительно два года, приблизительно три года и даже может составлять весь срок жизни субъекта. Во многих случаях показано хроническое долгосрочное введение. Дозировку можно вводить в виде однократной дозы или делить на многократные дозы. В целом, требуемую дозировку следует вводить в установленные интервалы в течение длительного периода времени, обычно по меньшей мере в течение более недель или месяцев, хотя могут потребоваться более длительные периоды введения продолжительностью несколько месяцев или лет или более.

Схему приема с использованием любой композиции, относящейся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанной в настоящем документе, можно выбрать в соответствии с различными факторами, включая тип, вид, возраст, массу тела, половую принадлежность и медицинское состояние субъекта; тяжесть состояния, подлежащего лечению; способ введения; функцию почек или печени субъекта; набор фармакогенных характеристик индивидуума и конкретное используемое соединение согласно настоящему изобретению. Любую композицию, относящуюся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанную в настоящем документе, можно вводить в виде однократной ежедневной дозы или можно вводить общую суточную дозу в виде разделенных доз два, три или четыре раза в день. Кроме того, любую композицию, относящуюся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанную в настоящем документе, можно вводить непрерывно, а не периодически, в ходе схемы приема средства.

Комбинированная терапия и конъюгация.

В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложены композиции, относящиеся к флагеллину, и способы, которые дополнительно включают введение дополнительного средства субъекту. В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к совместному введению и/или включению в один состав. Любая из композиций, описанных в настоящем документе, может входить в совместный состав и/или вводиться совместно.

В некоторых вариантах реализации любая композиция, относящаяся к флагеллину, описанная в настоящем документе, действует синергетически при совместном введении с другим средством и вводится в дозах, которые ниже, чем обычно используемые дозы, когда указанные средства применяются в качестве монотерапии. В различных вариантах реализации любое средство, упомянутое в настоящем описании, можно применять в комбинации с любой из композиций, относящихся к флагеллину, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к химиотерапевтическим средствам в качестве дополнительных средств. Примеры химиотерапевтических средств включают алкилирующие средства, такие как тиотепа и "Цитоксан" (циклофосфамид); алкилсульфонаты, такие как бусульфан, импросульфан и пипосульфан; азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилендиофосфорамид и триметилломеламин; ацетогенины (например, буллатацин и буллатацинон); камптотедин (включая синтетический аналог топотекан); бриостатин; каллистатин; СС-1065 (включая его синтетические аналоги адоцелезин, карцелезин и бицелезин); криптофицины (например, криптофицин 1 и криптофицин 8); доластатин; дуокармицин (включая синтетические аналоги КW-2189 и СВ1-ТМ1); элеутеробин; панкратистатин; саркодиктиин; спонгистатин; производные азотистого иприта, такие как хлорамбуцил, хлорнафазин, хлорфосфамид, эстрамустин, ифосфамид, мехлоретамин, мехлоретаминоксидгидрохлорид, мелфалан, новембицин, фенестерин, преднимустин, трофосфамид, урамустин;

производные нитрозомочевины, такие как кармустин, хлорзотоцин, фотемустин, ломустин, нимустин и ранимустин; антибиотики, такие как энедииновые антибиотики (например, калихеамицин, особенно калихеамицин-гамма-II и калихеамицин-омега-II (см., например, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994)); динемидин, включая динемидин А; бисфосфонаты, такие как клодронат; эсперамицин; а также неокарциностагин-хромофор и родственные хромопротеиновые энедииновые антибиотики-хромофоры), аклациномизины, актиномицин, антрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, карцинофин, хромомицины, дактиномицин, даунорубин, деторубин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, "Адриамицин" (доксорубин, включая морфолиндоксорубин, цианморфолиндоксорубин, 2-пирролиндоксорубин и деоксидоксорубин), эпирубин, эзрубин, идарубин, марцелломицин, митомицины, такие как митомицин С, микофеноловую кислоту, ногаламицин, оливомицины, пепломицин, порфирамицин, пурамицин, квеламицин, родорубин, стрептонигрин, стрептозоцин, тиберцидин, убенимекс, зиностагин, зорубин; антиметаболиты, такие как метотрексат и 5-фторурацил (5-ФУ); аналоги фолиевой кислоты, такие как деноптерин, метотрексат, птероптерин, триметотрексат; аналоги пурина, такие как флударабин, 6-меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин; аналоги пиримидина, например, анцитабин, азациитидин, 6-азауридин, кармофур, цитарабин, дидеоксиуридин, доксифлуридин, энцитабин, флоксуридин; андрогены, такие как калуостерон, дромостанолон пропионат, эпителиостанол, мепитиостан, тестостерон; антиадреналовые агенты, такие как аминоклотеимид, митоган, трилостан; компенсатор фолиевой кислоты, такой как фолиевая кислота; ацеглатон; альдофосфамидглюкозид; аминоклевулиновую кислоту; энилурацил; амсакрин; бестрабуцил; бисантрон; эдатрексат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; элформитин; эллиптиния ацетат; эпотион; этоглуцид; нитрат галлия; гидроксимочевину; лентинан; лонидамин; майтанзиноиды, такие как майтанзин и анзамитоцины; митогуазон; митоксантрон; мопиданмол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубин; лозоксантрон; подофиллиновую кислоту; 2-этилгидразид; прокарбазин; полисахаридный комплекс PSK (JHS Natural Products, Юджин, Орегон); разоксан; ризоксин; сизофуран; спирогерманий; теназониевую кислоту; триазиквон; 2,2',2"-трихлортриэтиламин; трихотецены (например, токсин Т-2, веррацирин А, роридин А и ангуидин); уретан; виндизин; дакарбазин; манномустин; митобронитол; митолактол; пипоброман; гацитозин; арабинозид ("Ара-С"); циклофосфамид; тиотепу; таксоиды, например, "Таксол" (паклитаксел) (Bristol-Myers Squibb Oncology, Принстон, Нью-Джерси), "Абраксан" без кремофора, состав на основе альбуминсодержащих наночастиц паклитаксела (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, 111), и "Таксотер" (доцетаксел) (Rhone-Poulenc Rorer, Атони, Франция); хлорамбуцил; "Гемзар" (гемцитабин); 6-тиогуанин; меркаптопурин; метотрексат; аналоги платины, такие как цисплатин, оксалиплатин и карбоплатин; винбластин; платину; этопозид (VP-16); ифосфамид; митоксантрон; винкристин; "Навелбин" (винорелбин); новантрон; тенипозид; эдатрексат; дауномицин; аминоклотеимид; кселоду; ибандронат; иринотекан ("Камптозар", СРТ-11) (включая схемы лечения на основе иринотекана с 5-ФУ и лейковорином); ингибитор топоизомеразы RFS 2000; диформетилорнитин (ДФМО); ретиноиды, такие как ретиноевая кислота; капецитабин; комбретагестин; лейковорин (LV); оксалиплатин, включая схему лечения на основе оксалиплатина (режим FOLFOX); лапатиниб ("Тайкерб"); ингибиторы протеинкиназы альфа (PKC- α), Raf, H-Ras, рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) (например, эрлотиниб ("Тарцева")) и фактора роста эндотелия сосудов А (VEGF-A), снижающие пролиферацию клеток, и фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из упомянутых выше средств, но не ограничиваются ими. Кроме того, способы лечения могут дополнительно включать применение облучения. Кроме того, способы лечения могут дополнительно включать применение фотодинамической терапии.

В некоторых вариантах реализации композиции, имеющие отношение к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем документе, включают производные, которые модифицированы, т.е. посредством ковалентного присоединения молекулы любого типа к композиции, так что указанное ковалентное присоединение не препятствует активности композиции. В качестве неограничивающего примера производные включают композицию, которая была модифицирована, помимо прочего, путем гликозилирования, липидизации, ацетилирования, пэгилирования, фосфорилирования, амидирования, присоединения известных защитных/блокирующих групп, протеолитического расщепления, связывания с клеточным лигандом или другим белком и т.д. Любую из многочисленных химических модификаций можно выполнить с помощью известных методик, включая специфическое химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболический синтез туникамицина и т.д., но не ограничиваясь ими. Кроме того, производное может содержать одну или более неклассических аминокислот.

В еще других вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем документе, дополнительно содержат цитотоксическое средство, содержащее в приводимых в качестве примера вариантах реализации, токсин, химиотерапевтическое средство, радиоизотоп и средство, которое вызывает апоптоз или клеточную смерть. Такие средства могут быть конъюгированы с композицией, описанной в настоящем документе.

Таким образом, композиции, относящиеся к флагеллину (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем документе, могут быть модифицированы посттрансляционно для добавления эффекторных групп, например химических линкеров, обнаруживаемых молекул, например флуоресцентных красителей, ферментов, субстратов, биолюминесцентных материалов, радиоактивных материалов и хе-

миллюминесцентных групп или функциональных групп, таких как, например, стрептавидин, авидин, биотин, цитотоксин, цитотоксический агент и радиоактивные материалы.

Приводимые в качестве примера цитотоксические средства включают метотрексат, аминоптерин, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, цитарабин, 5-фторурацил, декарбазин), алкилирующие средства, такие как мехлорэтамин, тиотепа, хлорамбуцил, мелфалан, кармустин (BSNU), митомицин С, ломустин (CCNU), 1-метилнитрозомочевину, циклофосфамид, мехлорэтамин, бусульфан, дибромманнитол, стрептозотозин, митомицин С, цис-дихлордиаминплатина (II) (DDP), цисплатин и карбоплатин (параплатин), антрациклины, включая даунорубицин (ранее называемый дауномицином), и доксорубицин (адриамицин), деторубицин, карминомицин, идарубицин, эпирубицин, митоксантрон и бизантрен; антибиотики, включая дактиномицин (актиномицин D), блеомицин, калихемицин, митрамицин и антрамицин (АМС); и антимиотические средства, такие как алкалоиды барвинка, винкристин и винбластин, но не ограничиваются ими. Другие цитотоксические средства включают паклитаксел (таксол), рицин, экзотоксин синегнойной палочки, гемцитабин, цитохалазин В, грамицидин D, этидия бромид, эметин, этопозид, тенопозид, колхицин, дигидроксиантрацендион, 1-дегидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол, пуромицин, прокарабазин, гидроксимочевину, аспарагиназу, кортикостероиды, митотан (O,P'-(DDD)), интерфероны и смеси этих цитостатических средств.

Дополнительные цитотоксические средства включают химиотерапевтические средства, такие как карбоплатин, цисплатин, паклитаксел, гемцитабин, калихеамицин, доксорубицин, 5-фторурацил, митомицин С, актиномицин D, циклофосфамид, винкристин, блеомицин, антагонисты VEGF, антагонисты EGFR, препараты платины, таксолы, иринотекан, 5-фторурацил, гемцитабин, лейковорин, стероиды, циклофосфамид, мелфалан, алкалоиды барвинка (например, винбластин, винкристин, виндезин и винорелбин), соединения азотистого иприта, ингибиторы тирозинкиназы, лучевую терапию, антагонисты половых гормонов, селективные модуляторы андрогенных рецепторов, селективные модуляторы рецепторов эстрогена, антагонисты тромбоцитарного фактора роста (ТФР, PDGF), антагонисты фактора некроза опухоли (ФНО), антагонисты ИЛ-1, интерлейкины (например, ИЛ-12 или ИЛ-2), антагонисты ИЛ-12R, моноклональные антитела, конъюгированные с токсином, специфичные к опухолевому антигену моноклональные антитела, "Эрбитукс", "Авастин", "Пертузумаб", анти-CD20 антитела, "Ритуксан", окрелизумаб, офатумумаб, DXL625, "Герцептин®" или любую их комбинацию, но не ограничиваются ими. Токсические ферменты из растений и бактерий, такие как рицин, дифтерийный токсин и токсин синегнойной палочки, могут быть сконъюгированы с лекарственными средствами (например, антителами) для создания специфических к типу клеток убивающих реактивов (Youle, et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 77:5483 (1980); Gilliland, et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 77:4539 (1980); Krolick, et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 77:5419 (1980)).

Другие цитотоксические средства, включая цитотоксические рибонуклеазы, описаны Голденбергом в публикациях патента США № 6653104. Варианты реализации настоящего изобретения также относятся к радиоиммуноконъюгатам, в случае которых радионуклид, который испускает альфа или бета-частицы, стабильно соединен с антителом или его связывающими фрагментами с использованием комплексобразующего средства или без него. Подобные радионуклиды включают бета-излучатели, такие как фосфор-32, скандий-47, медь-67, галлий-67, иттрий-88, иттрий-90, йод-125, йод-131, самарий-153, лютеций-177, рений-186 или рений-188, и альфа-излучатели, такие как астат-211, свинец-212, висмут-212, висмут-213 или актиний-225. Примеры обнаруживаемых молекул дополнительно включают пероксидазу хрена, ацетилхолинэстеразу, щелочную фосфатазу, бета-галактозидазу и люциферазу, но не ограничиваются ими. Дополнительные приводимые в качестве примера флуоресцентные материалы включают родамин, флуоресцеин, флуоресцеин изотиоцианат, умбеллиферон, дихлортриазиниламин, фикоэритрин и дансилхлорид, но не ограничиваются ими. Дополнительные приводимые в качестве примера хемиллюминесцентные молекулы включают люминол, но не ограничиваются им. Дополнительные приводимые в качестве примера биоллюминесцентные материалы включают люциферин и экворин, но не ограничиваются ими. Дополнительные приводимые в качестве примера радиоактивные материалы включают йод-125, углерод-14, серу-35, тритий и фосфор-32, но не ограничиваются ими.

В различных вариантах реализации дополнительные средства согласно настоящему изобретению включают один или более препаратов из крови, колониестимулирующих факторов, цитокинов и/или факторов роста, антибиотиков, разбавляющие и/или блокирующие средства, мобилизирующие или хелатирующие средства, трансплантаты стволовых клеток, антиоксиданты или свободные радикалы и радиопротекторы.

В некоторых вариантах реализации препараты крови представляют собой один или более из гемопозитических факторов роста, таких как филграстим (например, "Нейпоген"), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ), который может быть необязательно пэгиллирован (например, "Неуласта"); сарграмостим ("Лейкин") и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор роста (ГМ-КСФ) и специфичный для кератиноцитов фактор (КСФ).

В некоторых вариантах реализации дополнительные средства представляют собой один или более цитокинов и/или факторов роста, которые могут обеспечивать защиту от радиации путем восполнения и/или защиты радиочувствительных популяций стволовых клеток. Защиту от радиации с минимальными

побочными эффектами можно достигнуть путем применения фактора стволовых клеток (ФСК, лиганда c-kit), лиганда Flt-3 и фрагмента интерлейкина-1 IL-1b-rd. Защита может быть достигнута посредством индукции пролиферации стволовых клеток (например, через упомянутые цитокины) и предотвращения их апоптоза (например, через ФСК). Лечение делает возможным накопление лейкоцитов и их предшественников перед облучением, таким образом позволяя быстрее восстановить иммунную систему после облучения. ФСК эффективно спасает смертельно облученных мышей с фактором изменения дозы (ФИД) в диапазоне 1,3-1,35 и также эффективен против желудочно-кишечного синдрома. Лиганд Flt-3 также обеспечивает мощную защиту у мышей и кроликов.

Несколько факторов, которые не являются цитокинами по природе, стимулируют пролиферацию иммуноцитов, и их можно применять в комбинации с композициями, относящимися к флагеллину, при дозах и схемах лечения, описанных в настоящем документе. Например, 5-AED (5-андростендиол) представляет собой стероид, который стимулирует экспрессию цитокинов и повышает сопротивляемость к бактериальным и вирусным инфекциям. Синтетические соединения, такие как трихлор(диоксиэтилен-О,О')теллулат аммония (AS-101), также можно применять для индуцирования секреции многочисленных цитокинов и для комбинации с композициями, относящимися к флагеллину. Факторы роста и цитокины также можно применять для обеспечения защиты против желудочно-кишечного синдрома. Фактор роста кератиноцитов (ФРК) стимулирует пролиферацию и дифференциацию в слизистой оболочке кишечника и повышает выживаемость клеток после облучения в кишечных криптах. Гемопоэтический цитокин и радиопротектант ФСК также может увеличивать выживаемость стволовых клеток кишечника и связанную с этим краткосрочную выживаемость организма. В определенных вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, можно добавлять в схему лечения цитокинами (например, для филграстима (Г-КСФ) 2,5-5 мкг/кг/день один раз в день подкожно (п/к) (100-200 мкг/м²/день); для сарграмости-ма (ГМ-КСФ) 5-10 мкг/кг/день один раз в день п/к (200-400 мкг/м²/день) и/или для пэгфилграстима (ПЭГ-К-КСФ) 6 мг один раз п/к).

В некоторых вариантах реализации антибиотик представляет собой одно или более из антибактериальных (антиграмположительных и антиграмотрицательных средств), и/или противогрибковых, и/или противовирусных средств. В качестве неограничивающего примера в некоторых вариантах реализации антибиотик может представлять собой хинолон, например цiproфлоксацин, левофлоксацин, третье или четвертое поколение цефалоспоринов со спектром действия, охватывающим псевдомонады, например цефепим, цефтазидим, или аминогликозид, например гентамицин, амикацин, пинациллин или амоксицилин, ацикловир, ванкомицин. В различных вариантах реализации цель антибиотика представляет собой *Pseudomonas aeruginosa*.

В некоторых вариантах реализации изобретения дополнительное средство представляет собой разбавляющее и/или блокирующее средство. Например, могут быть использованы стабильные соединения йодида (например, жидкий (препарат ThyroShield) и в таблетках (препарат Iosat) KI (препарат NUKEPILLS), препараты Rad Block, I.A.A.A.M., No-Rad, Life Extension (LEF), KI4U, NukeProtect, ProKI)). Ежедневную дозу калия йодида (KI) в 130 мг перорально можно применять совместно с композициями, относящимися к флагеллину.

В некоторых вариантах реализации дополнительное средство представляет собой мобилизирующее или хелатирующее средство. Иллюстративные примеры мобилизирующих средств включают пропи-тиоурацил и метимазол, с которыми можно снизить задержку радиоактивных соединений щитовидной железой. Дополнительно композиции, относящиеся к флагеллину, можно применять одновременно с увеличивающимися количествами жидкостями ротовой полости у пациента для стимулирования экскреции. Иллюстративные примеры хелатирующих средств являются растворимыми в воде и выводятся с мочой. Иллюстративные примеры хелатирующих средств включают диэтиленetriаминпентауксусную кислоту (ДТПА) и этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА). Димеркапрол образует стабильные хелаты с ртутью, свинцом, мышьяком, золотом, висмутом, хромом и никелем и, таким образом, может рассматриваться как средство для лечения внутреннего заражения радиоизотопами этих элементов. Пеницилламин хелатирует медь, железо, ртуть, свинец, золото и возможно другие тяжелые металлы.

В некоторых вариантах реализации дополнительное средство представляет собой трансплантат стволовых клеток (например, трансплантат костного мозга, трансплантат стволовых клеток периферической крови (PBSC), трансплантат мезенхимальных стволовых клеток (MSC)). В некоторых вариантах реализации трансплантат стволовых клеток представляет собой препарат Remestemcel-L (Osiris) или препарат CLT 008 (Cellerant).

В некоторых вариантах реализации дополнительное средство представляет собой антиоксидант или свободный радикал. Антиоксиданты и поглотители свободных радикалов, которые можно применять при практическом применении настоящего изобретения, включают тиолы, такие как цистеин, цистеамин, глутатион и билирубин; амифостин (WR-2721); витамин А; витамин С; витамин Е; и флавоноиды, такие как индийский базилик священный (*Ocimum sanctum*), ориентин и висенин, но не ограничиваются ими.

В некоторых вариантах реализации дополнительное средство может представлять собой радиопротектант, например, антиоксидант, (например амифостин и витамин Е, гамма-токотриенол (фрагмент витамина Е) и генистеина (побочный продукт сои), цитокин (например, фактор стволовых клеток), фактор

роста (например, фактор роста кератиноцитов), стероид (например, 5-андростендиол), трихлор(диоксиэтилен-О,О')теллулат аммония, средства для защиты щитовидной железы (например, йодид калия (KI) или йодат калия (KIO₃) (например, жидкий (препарат ThyroShield) и в таблетках (препарат Iosat) KI (препарат NUKEPILLS), препараты Rad Block, I.A.A.A.M., No-Rad, Life Extension (LEF), KI4U, NukeProtect, ProKI)), средства против тошноты, средства против диареи, противорвотные средства ((например, оральные профилактические противорвотные средства), такие как гранисетрон ("Китрил"), ондансетрон ("Зофран") и блокаторы 5-HT₃-рецепторов с дексаметозоном или без него), анальгетики, анксиолитики, седативные средства, цитокиновые лекарственные средства и антибиотики. Промывание желудка и рвотные средства, которые можно применять в качестве дополнительных средств, можно применять для быстрого и полного опустошения желудка после проглатывания ядовитых материалов. Слабительные средства, послабляющие средства и клизмы, которые также можно применять в качестве дополнительных средств, могут снижать время удержания радиоактивных материалов в толстой кишке. Дополнительно, дополнительные средства включают ионнообменные смолы, которые могут ограничивать поглощение в желудочно-кишечном тракте, ферроцианид двухвалентного железа (берлинская лазурь) и альгинаты, которые применялись у человека для ускорения экскреции с фекалиями цезия-137. В еще одних вариантах реализации дополнительной средство может представлять собой средство, применяемое для лечения радиационно-ассоциированных нарушений, такое как, например, препарат 5-AED (Humanetics), Ex-RAD (Onconova), беклометазона дипропионат (Soligenix), нейтрализованный эндотоксин, EA-230 (Exponential Biotherapies), ON-01210.Na (Onconova), сотромбомулин альфа (PAION), Remestemcel-L (Osiris), BIO-100, BIO-200, BIO-300, BIO-400, BIO-500 (Humanetics), CLT-008 (Cellerant), EDL-2000 (RxBio), Homspira (ImmuneRegen), MnDTEIP (Aeolus Pharmaceuticals), RLIP-76 (Terapio) и RX-100 и RX101 (RxBio).

Дополнительно, в некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) можно использовать в комбинации с экранированием; снижением времени воздействия радиации и применением средств для снижения облучения тела (например, применение перчаток, лицевой маски, капюшона, защитной одежды (например, костюмы для защиты от заражения, такие как TYVEK ANTI-C SUITS или MOPP-4)).

Вирусные векторы, кодирующие лекарственные средства, и клетки, экспрессирующие лекарственные средства.

В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) согласно настоящему изобретению экспрессируются вирусными векторами и трансформированными клетками. Например, вирусные векторы и трансформированные клетки человека, описанные в настоящем документе, могут экспрессировать композиции согласно настоящему изобретению. В одном варианте изобретения вирусный вектор или клетки человека, экспрессирующие лекарственное средство, способны экспрессировать средство вблизи опухоли. Клетки могут быть модифицированы *in vivo* или альтернативно клетки, модифицированные *ex vivo*, можно ввести пациенту различными способами, такими как инъекция.

В одном варианте реализации клетка представляет собой опухолевую клетку. Для *ex vivo* трансформации указанные опухолевые клетки могут быть облучены для устранения способности клеток реплицироваться, как известно в данной области техники, вместе с тем поддерживая транзистентную экспрессию лекарственных средств после введения. Для *in vivo* трансформации могут быть предпочтительны неинтегративные векторы.

В определенных вариантах реализации опухолевая клетка является аутогенной или эндогенной. В первом случае опухолевую клетку берут у пациента, трансфецируют или трансдуцируют конструкцией, кодирующей лекарственное средство, и заново вводят пациенту, например, после облучения. Во втором случае опухолевую клетку трансформируют *in vivo* путем локального введения конструкции, как описано в настоящем документе.

В альтернативном варианте реализации модифицированная опухолевая клетка является аллогенной. Таким образом, аллогенную опухолевую клетку можно поддерживать в клеточной линии. В этом случае опухолевую клетку можно выбрать из клеточной линии, облучить и ввести пациенту.

Модифицированные клетки человека, способные вырабатывать композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), можно получить путем трансфецирования или трансдукции клеток экспрессионными векторами, кодирующими лекарственное средство. Экспрессионные векторы для экспрессии композиций, относящихся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), или комбинации лекарственных средств можно получить способами, хорошо известными в данной области техники.

В различных вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) можно вводить пациенту в форме одной или более конструкций нуклеиновой кислоты.

В одном из вариантов реализации конструкция содержит ретровирусный вектор. Ретровирусные векторы способны перманентно интегрироваться в ДНК, кодирующую композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) в геном клетки. Таким образом, в случае *ex vivo* манипуляций с аллогенными клетками можно получить стабильные клеточные линии, которые конститутивно вырабатывают композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства). В одном варианте

реализации клетки облучают перед введением пациенту. Облученные клетки вырабатывают композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) в течение ограниченного периода времени.

В одном из вариантов реализации экспрессионная конструкция содержит вектор SFV, который демонстрирует высокие уровни транзientной экспрессии в клетках млекопитающих. Вектор SFV описан, например, в публикации Lundstrom, Expert Opin. Biol. Ther. 3:771-777 (2003), полностью включенной в настоящее описание посредством ссылки. Таким образом, в случае *in vivo* манипуляции с эндогенными клетками пациента можно достичь транзientной экспрессии высоких уровней композиций, относящихся к флагеллину, (и/или дополнительных средств).

Системы, способные экспрессировать рекомбинантный белок *in vivo*, хорошо известны в данной области техники. В качестве примера система может применять опосредованную 2A пептидом систему экспрессии антител, описанную в Fang et al., Nature Biotech. 23(5):584-590 (2005) и публикации патента США № 2005/0003506, содержание которых явным образом полностью включено в настоящее описание посредством ссылки. Другие системы, известные в данной области техники, предполагаются и также могут быть адаптированы для получения композиций, относящихся к флагеллину, (и/или дополнительных средств) *in vivo*, как описано в настоящем документе.

В различных вариантах реализации введение клеток, экспрессирующих композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем документе, или средств согласно настоящему изобретению, описанных в настоящем документе, может быть совмещено с введением цитокинов, которые стимулируют антигенпрезентирующие клетки, таких как гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор роста (ГМ-КСФ), макрофагальный колониестимулирующий фактор роста (М-КСФ), гранулоцитарный колониестимулирующий фактор роста (Г-КСФ), интерлейкин 2 (ИЛ-3), интерлейкин 12 (ИЛ-12), интерферон и т.д., или клеточных вакцин, способных экспрессировать подобные цитокины. В некоторых вариантах реализации клетки, экспрессирующие композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), дополнительно модифицированы для экспрессии подобных цитокинов. Дополнительные белки и/или цитокины, которые известно, что усиливают пролиферацию и секрецию Т-клеток, такие как ИЛ-1, ИЛ-2, В7, анти-CD3 и анти-CD28, можно использовать одновременно или последовательно с композициями, относящимися к флагеллину, (и/или дополнительными средствами) согласно настоящему изобретению для усиления иммунного ответа, и/или стимуляции костимуляторных путей, и/или индукции активации/пролиферации эффекторных Т-клеток.

Векторы и способы трансформации.

Экспрессионные векторы, кодирующие композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства) могут быть вирусными и не вирусными. Вирусные векторы являются предпочтительными для применения *in vivo*. Экспрессионные векторы согласно настоящему изобретению содержат нуклеиновую кислоту, кодирующую композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), или ее комплементарную цепь, функционально связанную с областью контроля экспрессии, или ее комплементарную цепь, являющуюся функциональной в клетке млекопитающего. Область контроля экспрессии способна запускать экспрессию функционально связанной нуклеиновой кислоты, кодирующей блокирующее и/или стимулирующее средство, так что блокирующее и/или стимулирующее средство вырабатывается в клетке человека, трансформированной экспрессионным вектором. Области контроля экспрессии представляют собой регуляторные полинуклеотиды (иногда называемые в настоящем описании элементами), такие как промоторы и энхансеры, которые влияют на экспрессию функционально связанной нуклеиновой кислоты.

Область контроля экспрессии экспрессионного вектора согласно настоящему изобретению способна экспрессировать функционально связанную кодирующую нуклеиновую кислоту в клетке человека. В одном варианте реализации клетка представляет собой опухолевую клетку. В другом варианте реализации клетка представляет собой неопухолевую клетку.

В одном варианте реализации область контроля экспрессии обеспечивает регулируемую экспрессию функционально связанной нуклеиновой кислоты. Сигнал (иногда обозначаемый как стимул) может повышать или понижать экспрессию нуклеиновой кислоты, функционально связанной с подобной областью контроля экспрессии. Подобные области контроля экспрессии, которые повышают экспрессию в ответ на сигнал, часто обозначаются как индуцибельные. Подобные области контроля экспрессии, которые снижают экспрессию в ответ на сигнал, часто обозначаются как репресслируемые. Как правило, уровень повышения или понижения, обеспечиваемого подобными элементами, пропорционален уровню присутствующего сигнала; чем выше уровень сигнала, тем больше повышение или понижение экспрессии. В одном варианте реализации настоящее изобретение подразумевает применение индуцибельных промоторов, способных осуществлять транзientную экспрессию на высоком уровне в ответ на сигнал. В случае нахождения вблизи опухолевой клетки клетка, трансформированная экспрессионным вектором для выработки композиций, относящихся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), включающая подобную последовательность, контролирующую экспрессию, индуцируется воздействием на трансформированную клетку соответствующего сигнала транзientно вырабатывать высокий уровень средства. Приводимые в качестве примера области контроля экспрессии включают области, содержащие индуци-

бельный промотор, который стимулируется сигналом, таким как малая молекула химического соединения. Конкретные примеры могут быть найдены, например, в публикациях патента США № 5989910, 5935934, 6015709 и 6004941, каждый из которых полностью включен в настоящее описание посредством ссылки.

Области контроля экспрессии включают полноразмерные промоторные последовательности, такие как нативный промотор и энхансерные элементы, а также подпоследовательности или полинуклеотидные варианты, которые сохраняют всю или часть функции полноразмерной или не являющейся вариантом последовательности. Используемый в настоящем описании термин "функциональный" и его грамматические варианты, когда используется по отношению к последовательности нуклеиновой кислоты, подпоследовательности или фрагменту, означает, что последовательность имеет одну или более функций нативной последовательности нуклеиновой кислоты (например, не являющейся вариантом или немодифицированной последовательности). Используемый в настоящем описании термин "функционально связанный" относится к физическому смежному положению компонентов таким образом, что позволяет им функционировать их надлежащим образом. В конкретном примере элемента контроля экспрессии, который функционально связан с нуклеиновой кислотой, взаимоотношения являются такими, что элемент контроля модулирует экспрессию нуклеиновой кислоты. Как правило, область контроля экспрессии, которая модулирует транскрипцию, расположена вблизи 5'-конца транскрибируемой нуклеиновой кислоты (т.е. в обратном направлении хода транскрипции, "upstream"). Области контроля экспрессии также могут располагаться на 3'-конце транскрибируемой последовательности (т.е. по ходу транскрипции, "downstream") или внутри транскрипта (например, в интроне). Элементы контроля экспрессии могут располагаться на расстоянии от транскрибируемой последовательности (например, за 100-500, 500-1000, 2000-5000 или более нуклеотидов от нуклеиновой кислоты). Конкретный пример элемента контроля экспрессии представляет собой промотор, который, как правило, расположен в 5'-направлении от транскрибируемой последовательности. Другой пример элемента контроля экспрессии представляет собой энхансер, который может быть расположен в 5'- или 3'-направлении от транскрибируемой последовательности или внутри транскрибируемой последовательности.

Системы экспрессии, функционирующие в клетках человека, хорошо известны в данной области техники и включают вирусные системы. В общем случае промотор, функционирующий в клетке человека, представляет собой любую ДНК-последовательность, способную связываться с РНК-полимеразой млекопитающих и инициировать в прямом направлении (3') транскрипцию в мРНК последовательности, кодирующей лиганд В7-Н4. Промотор имеет участок инициации транскрипции, который обычно располагается ближе к 5'-концу кодирующей последовательности, и, как правило, ТАТА-бокс, расположенный на 25-30 пар оснований левее сайта инициации транскрипции. Полагают, что ТАТА-бокс направляет РНК-полимеразу II начинать синтез РНК с правильного сайта. Промотор также, как правило, содержит в направлении против хода транскрипции промоторный элемент (энхансерный элемент), как правило, расположенный в пределах 100-200 пар оснований левее ТАТА-бокса. Элемент промотора, расположенный против хода транскрипции, определяет скорость, при которой транскрипция инициируется, и может действовать в любой ориентации. В качестве промоторов находят особое применение промоторы из вирусных генов млекопитающих, так как вирусные гены часто экспрессируются на высоком уровне и имеют широкий диапазон организмов-хозяев. Примеры включают ранний промотор SV40, промотор вируса LTR рака молочной железы мышей, главный поздний промотор аденовируса, промотор вируса простого герпеса и промотор CMV.

Как правило, последовательности терминация транскрипции и полиаденилирования, распознаваемые клетками млекопитающих, являются регуляторными участками, расположенными в 3'-направлении к стоп-кодону трансляции и, таким образом, вместе с промоторными элементами, фланкирующими кодирующую последовательность. 3'-конец зрелой мРНК образуется в ходе сайт-специфического посттрансляционного расщепления и полиаденилирования. Примеры сигналов терминации транскрипции и полиаденилирования включают сигналы, получаемые из вируса SV40. Интроны также могут быть включены в экспрессионные конструкции. Существуют различные доступные способы введения нуклеиновых кислот в жизнеспособные клетки. Методики, пригодные для переноса нуклеиновой кислоты в клетки млекопитающих *in vitro*, включают применение липосом, электропорацию, микроинъекцию, слияние клеток, системы на основе полимеров, обработку диэтиламиноэтилдекстраном (ДЭАЭ-декстраном), вирусную трансдукцию, способ осаждения с фосфатом кальция и т.д. Для переноса генов *in vivo* можно также использовать ряд методик и реагентов, включая липосомы; устройства для доставки на основе природных полимеров, таких как хитозан и желатин; вирусные векторы также предпочтительны для трансдукции *in vivo*. В некоторых ситуациях требуется обеспечить средство, обладающее направленным действием, такое как антитело или лиганд-специфичное средство для мембранного белка поверхности опухолевой клетки. В случаях, когда используют липосомы, можно использовать для направленного действия и/или для облегчения поглощения белки, которые связываются с мембранным белком клеточной поверхности, ассоциированным с эндоцитозом, например капсидные белки или их фрагменты, тропные по отношению к клеткам конкретного типа, антитела для белков, которые проходят интернализацию в клеточном цикле, белки, целью которых является локализация внутри клетки и которые увеличивают

внутриклеточный период полужизни. Методика рецептор-опосредованного эндоцитоза описана, например, в публикациях Wu et al., *J. Biol. Chem.* 262, 4429-4432 (1987) и Wagner et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 3410-3414 (1990).

При необходимости можно использовать средства доставки генов, такие как, например, интеграционные последовательности. Многочисленные интеграционные последовательности известны в данной области техники (см., например, Nunes-Duby et al., *Nucleic Acids Res.* 26:391-406, 1998; Sadwoski, *J. Bacteriol.*, 165:341-357, 1986; Bestor, *Cell*, 122(3):322-325, 2005; Plasterk et al., *TIG*, 15:326-332, 1999; Kootstra et al., *Ann. Rev. Pharm. Toxicol.*, 43:413-439, 2003). К ним относятся рекомбиназы и транспозазы. Примеры включают Cre (Sternberg and Hamilton, *J. Mol. Biol.*, 150:467-486, 1981), лямбда (Nash, *Nature*, 247, 543-545, 1974), Flp (Broach, et al., *Cell*, 29:227-234, 1982), R (Matsuzaki, et al., *J. Bacteriology*, 172:610-618, 1990), *spC31* (см., например, Groth et al., *J. Mol. Biol.* 335:667-678, 2004), транспозон "спящая красавица", транспозазы семейства *mariner* (Plasterk et al., ранее) и компоненты для интегрирующих вирусов, таких как аденоассоциированный вирус (AAV), ретровирусы и антивирусы, имеющие компоненты, обеспечивающие вирусную интеграцию, например LTR-последовательности ретровирусов или лентивируса и ITR-последовательности вируса AAV (Kootstra et al., *Ann. Rev. Pharm. Toxicol.*, 43:413-439, 2003).

Вирусные векторы.

В одном из аспектов согласно настоящему изобретению предложены экспрессионные векторы для экспрессии композиций, относящихся к флагеллину (и/или дополнительных средств), которые представляют собой вирусные векторы. Многие вирусные векторы являются пригодными для генной терапии (см., например, Lundstrom, *Trends Biotechnol.*, 21:117, 122, 2003).

Приводимые в качестве примера вирусные векторы включают векторы, выбранные из антивирусов (LV), ретровирусов (RV), аденовирусов (AV), аденоассоциированных вирусов (AAV) и альфа-вирусов, но и другие вирусные векторы можно также использовать. Для применения *in vivo* предпочтительны вирусные векторы, которые не интегрируются в геном хозяина, такие как альфа-вирусы и аденовирусы, причем альфа-вирусы особенно предпочтительны. Приводимые в качестве примера типы вирусов α включают вирус Синдбис, вирус венесуэльского энцефалита лошадей (VEE) и вирус леса Семлики (SFV), причем вирус SFV особенно предпочтителен. Для применения *in vitro* предпочтительны вирусные векторы, которые интегрируются в геном хозяина, такие как ретровирусы, AAV и антивирусы.

В одном варианте изобретения вирусный вектор обеспечивает высокий уровень транзientной экспрессии в трансдуцированной клетке человека.

В одном из вариантов реализации вирусный вектор не обеспечивает интеграцию нуклеиновой кислоты, кодирующей композицию, относящуюся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), в трансдуцированную клетку человека.

В другом варианте реализации вирусный вектор обеспечивает интеграцию нуклеиновой кислоты, кодирующей композицию, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), в трансдуцированную клетку человека.

В одном из вариантов реализации согласно настоящему изобретению предложены способы трансдукции клетки человека *in vivo*, включающие приведение в контакт солидной опухоли *in vivo* с вирусным вектором согласно настоящему изобретению.

В другом варианте реализации согласно настоящему изобретению предложены способы трансдукции клетки человека *ex vivo*, включающие приведение в контакт клетки человека *ex vivo* с вирусным вектором согласно настоящему изобретению. В одном из вариантов реализации клетка человека представляет собой опухолевую клетку. В одном из вариантов реализации клетка человека является аллогенной. В одном варианте реализации опухолевую клетку получают от пациента. В одном варианте изобретения клетка человека представляет собой неопухолевую клетку, такую как, например, антигенпрезентирующая клетка (АПК) или Т-клетка.

Оболочки вирусных частиц можно модифицировать для изменения специфичности и улучшения направленного воздействия на клетку/ткань, как это хорошо известно в данной области техники. Вирусные векторы также могут быть доставлены в составе других носителей, например липосом. Липосомы также могут иметь части для направленного воздействия на мишень, прикрепленные к их поверхности для улучшения направленного воздействия на клетку/ткань.

В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложены клетки человека, экспрессирующие лекарственное средство согласно настоящему изобретению. В различных вариантах реализации клетки человека экспрессируют средство вблизи опухолевой клетки, например, пациента.

Способы диагностики и прогнозирования.

В некоторых аспектах согласно настоящему изобретению предложен способ идентификации субъекта, который может отвечать на лечение агонистом TLR5. В некоторых вариантах реализации согласно настоящему изобретению предложен способ определения, экспрессирует ли опухоль пациента TLR5.

Экспрессия TLR5 может представлять прогностический маркер для определения степени и/или прогрессирования опухоли или дисплазии пациента. В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем изобретении, можно применять для определения степени злокачественности опухоли и/или стадии конкретного рака.

Степень злокачественности опухоли представляет собой систему, используемую для классификации опухолевых клеток по тому, насколько атипичными они выглядят под микроскопом и как быстро опухоль по всей вероятности вырастет и распространится. Учитываются многие факторы при определении степени злокачественности опухоли, включая структуру и характер роста клеток. Конкретные факторы, используемые для определения степени злокачественности опухоли, могут меняться в зависимости от типа рака и известны в данной области техники.

Гистологическая степень злокачественности опухоли, также называемая дифференцировкой, относится к тому, насколько опухолевые клетки напоминают нормальные клетки того же типа ткани. Степень полиморфизма ядер относится к размеру и форме ядра в опухолевых клетках и проценту опухолевых клеток, которые делятся. В зависимости от наблюдаемого вида под микроскопом патологоморфологи обычно описывают степень злокачественности рака по четырем степеням тяжести: степени 1, 2, 3 и 4. Клетки опухолей 1 степени напоминают нормальные клетки и склонны медленно расти и размножаться. Опухоли 1 степени главным образом считаются наименее агрессивными по поведению. В свою очередь, клетки опухолей 3 и 4 степени не выглядят как нормальные клетки того же типа. Опухоли 3 и 4 степени склонны быстро расти и распространяются быстрее, чем опухоли с меньшей степенью злокачественности. Американский объединенный комитет по изучению рака (American Joint Committee on Cancer) рекомендует следующие руководства по стадированию опухолей: GX - нельзя оценить степень (неопределенная степень); G1 - хорошо дифференцированный (низкая степень); G2 - средняя степень дифференциации (средняя степень); G3 - слабо дифференцированный (высокая степень) и G4 - недифференцированный (высокая степень).

Система степеней различная для каждого типа рака. Например, патологоморфологи используют систему Глиссона для описания степени дифференциации клеток рака предстательной железы. В системе Глисона используют баллы в диапазоне от степени 2 до степени 10. Более низкие баллы по Глиссону описывают хорошо дифференцированные, менее агрессивные опухоли. Более высокие баллы по Глиссону описывают плохо дифференцированные, более агрессивные опухоли. Другие системы градации включают, например, систему Блума-Ричардсона для рака молочной железы и систему Фурмана для рака почки.

Выживаемость после рака или статистика по выживаемости может относиться к проценту людей, которые остались живы после определенного типа рака в течение конкретного периода времени. В статистике по раку обычно используют общую пятилетнюю выживаемость. Например, общая пятилетняя выживаемость для рака мочевого пузыря составляет 80%, т.е. 80 из каждых 100 человек, которым поставили диагноз рак мочевого пузыря, жили в течение 5 лет после постановки диагноза и 20 человек из каждых 100 умирали в течение 5 лет после постановки диагноза рак мочевого пузыря. Можно использовать другие виды выживаемости, например безрецидивная выживаемость (число людей с раком, которые достигли ремиссии), выживаемость без прогрессирования (число людей, у которых еще есть рак, но заболевание не прогрессирует).

В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем изобретении, можно применять для установления степени злокачественности опухоли для целей диагностики или прогнозирования развития конкретного рака, включая прогнозирование выживаемости, безрецидивной выживаемости и/или выживаемости без прогрессирования перед, во время и/или после введения композиций, относящихся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанных в настоящем документе, и/или перед, во время и/или после применения противоопухолевого средства или терапии.

В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем изобретении, применяют как часть способа оценки степени злокачественности опухоли для облегчения выбора и/или прогнозирования результата лечения. Например, композиции, относящиеся к флагеллину (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем документе, можно применять для диагностики и идентификации рака, полученного от пациента, как рака 1 стадии (например, не местнораспространенного), прогнозируя необходимость в менее агрессивном лечении. Альтернативно, лекарственное средство, описанное в настоящем документе, можно применять для диагностики и идентификации рака, полученного от пациента, как рака 2 или 3 стадии (например, рак может быть местнораспространенным), прогнозируя необходимость в более агрессивном лечении. Аналогичным образом, композиции, относящиеся к флагеллину (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем документе, можно применять для диагностики и идентификации рака, полученного от пациента, как рака 4 стадии или метастатического, прогнозируя необходимость в очень агрессивном лечении.

В некоторых вариантах реализации рак является неоперабельным. Неоперабельный рак представляет собой злокачественную опухоль, которая не может быть удалена хирургическим путем по причине либо числа метастатических очагов, либо потому что находится в опасной для хирургического вмешательства зоне. В некоторых вариантах реализации лекарственное средство, описанное в настоящем документе, применяют как часть способа лечения опухолей для облегчения выбора характера и/или времени/применения лечения, включая, например, введение противоопухолевых средств, которые уменьшают объем опухоли перед химиотерапевтической и/или лучевой терапией, и/или повышение или понижение

дозы химиотерапии или облучения, применяемого в отношении пациента.

В некоторых вариантах реализации рак является мультирезистентным. Например, пациент может проходить один или более циклов химиотерапии без существенного ответа. Альтернативно или дополнительно, опухоль имеет один или более маркеров мультирезистентности. Таким образом, используемый в настоящем описании термин "мультирезистентный" обозначает рак, проявляющий отсутствие реакции по меньшей мере на один цикл комбинированной химиотерапии, или, альтернативно, оцененный (диагностически) как резистентный по меньшей мере к двум средствам (включая сопоставимое средство) из доцетаксела, паклитаксела, доксорубина, эпирубина, карбоплатина, цисплатина, винбластина, винкристина, оксалиплатина, кармустина, фторурацила, гемцитабина, циклофосфида, ифосфида, топотекана, эрлотиниба, этопозиды и митомицина. В некоторых вариантах реализации лекарственные средства, описанные в настоящем документе, можно применять для установления, чувствительна ли опухоль к одному или более химиотерапевтическому средству, лучевой терапии и/или другой противоопухолевой терапии.

В других вариантах реализации рак представляет собой рецидив после традиционной химиотерапии первоначального рака. Часто рецидивный рак приобретает устойчивость к лекарственным средствам и, таким образом, является особенно сложным для лечения и часто сопровождается неблагоприятным прогнозом выживаемости. В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем изобретении, применяют как часть способа оценки опухоли, который заменяет оценку общего состояния пациента. Общее состояние можно количественно оценить с использованием любой системы и способов для оценки общего состояния пациента, которые известны в данной области техники. Данную оценку часто используют для определения, может ли пациент получать химиотерапию, для подбора дозы и/или для определения интенсивности паллиативной помощи. Существуют различные системы оценки, включая шкалу Карновски и шкалу по Зуброду. Параллельные системы оценки включают шкалу общей оценки функционального статуса (GAF), которая включена как пятая ось в диагностическое и статистическое руководство (DSM) психиатрии.

Более высокий уровень общего состояния (например, по меньшей мере приблизительно 80% или по меньшей мере приблизительно 70% с использованием шкалы Карновски) может свидетельствовать о необходимости лечения для профилактики прогрессирования болезненного состояния и улучшает способность пациента переносить химиотерапию и/или лучевую терапию. Например, когда лекарственное средство, описанное в настоящем документе, свидетельствует о более высоком уровне общего состояния, пациент является ходячим и способен позаботиться о себе. В других вариантах реализации, когда лекарственное средство, описанное в настоящем документе, свидетельствует о низком уровне общего состояния (например, менее приблизительно 50%, менее приблизительно 30% или менее приблизительно 20% с использованием шкалы Карновски), пациент по большей части прикован к кровати или креслу и не способен даже позаботиться о себе.

Шкала Карновски имеет диапазон от 100 до 0, где 100 - это "идеальное" здоровье и 0 - это смерть. Шкалу можно использовать с делениями по 10, где приблизительно 100% - нормальное состояние, без жалоб, без признаков заболевания; приблизительно 90% - способен проявлять нормальную активность, отдельные симптомы или признаки заболевания, приблизительно 80% - нормальная активность с некоторыми затруднениями, некоторые симптомы или признаки; приблизительно 70% - способен заботиться о себе, не способен проявлять нормальную активность или работать; приблизительно 60% - требуется некоторая помощь, может позаботиться о большинстве личных потребностей; приблизительно 50% - часто требуется помощь, требуется частая медицинская помощь; приблизительно 40% - потеря трудоспособности, требуется особый уход и помощь; приблизительно 30% - серьезная потеря трудоспособности, свидетельствует о необходимости госпитализации, но нет риска смерти; приблизительно 20% - очень больной, требуется срочная госпитализация, требуется поддерживающие меры или лечение; и приблизительно 10% - агонирующий, быстро прогрессирующие процессы смертельного заболевания.

Шкала по Зуброду для оценки общего состояния включает: 0 - полностью активен, способен выполнять весь объем работы до заболевания без ограничений; 1 - ограничен в выполнении чрезмерной физической нагрузки, но ходячий и способен выполнять работу легкого или малоподвижного характера, например легкую работу по дому, офисную работу; 2 - ходячий и способен позаботиться о себе, но не способен выполнять любую другую работу, на ногах более приблизительно 50% часов бодрствования; 3 - способен только ограниченно позаботиться о себе, прикован к кровати или креслу более 50% часов бодрствования; 4 - полностью нетрудоспособен, не может заботиться о себе, полностью прикован к кровати или креслу; 5 - мертв. В некоторых вариантах реализации гистологические образцы опухолей стадированы с использованием лекарственного средства, описанного в настоящем документе, согласно публикации Elston & Ellis, *Histopathology*, 1991, 19:403-10, которая настоящим полностью включена посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации лекарственное средство, описанное в настоящем документе, применимо для установления степени злокачественности рака для целей диагностики или прогнозирования развития конкретного рака.

В некоторых вариантах реализации композиции, относящиеся к флагеллину, (и/или дополнительные средства), описанные в настоящем изобретении, можно применять для оценки субъекта и/или образ-

ца, полученного от пациента (например, ракового пациента). В некоторых вариантах реализации оценка представляет собой одно или более из следующего: диагностики, прогнозирования и/или ответа на лечение. Диагностика относится к процессу попытки установления или идентификации возможного заболевания или нарушения, такого как, например, рак. Прогнозирование относится к предсказанию вероятного результата заболевания или нарушения, такого как, например, рак. Полный прогноз часто включает ожидаемую длительность, функцию и описание течения заболевания, такого как прогрессирующее ухудшение, периодический кризис или внезапный, непредсказуемый кризис. Ответ на лечение представляет собой предсказание медицинской эффективности у пациента, получающего лечение. Ответы на лечение могут представлять собой в качестве неограничивающих примеров полный патологический ответ, выживаемость или вероятность рецидива.

В различных вариантах реализации способы диагностики и прогнозирования, описанные в настоящем документе, включают оценку наличия, отсутствия или уровня белка. В другом варианте реализации способы, описанные в настоящем документе, включают оценку наличия, отсутствия или уровня экспрессии нуклеиновой кислоты. Композиции, описанные в настоящем документе, можно применять для этих измерений. Например, в некоторых вариантах реализации способы, описанные в настоящем документе, включают осуществление контакта образца опухоли или клетки, которую культивировали из опухоли, с лекарственным средством, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение включает измерение образца опухоли, включая биопсию образцов хирургических препаратов. В некоторых вариантах биопсия представляет собой биопсию человека. В различных вариантах реализации биопсия представляет собой биопсию любого замороженного образца ткани, культивируемых клеток, циркулирующих опухолевых клеток и зафиксированных в формалине и залитых парафином образцов опухолевой ткани. В некоторых вариантах реализации образец опухоли может представлять собой биопсийный материал, такой как замороженный образец опухолевой ткани (криосрез). Как известно в данной области техники, для получения криосреза можно использовать криостат, который содержит микротом внутри холодильной камеры. Хирургический образец помещают на металлический диск для ткани, который потом фиксируется зажимом, и быстро замораживают до температуры от приблизительно -20 до приблизительно -30°C. Образец заливают гелеобразной средой, состоящей, например, из полиэтиленгликоля и поливинилового спирта. Замороженную ткань нарезают замороженной с помощью микротомной части криостата и срезы при необходимости помещают на препаративное стекло и окрашивают. В некоторых вариантах реализации образец опухоли может представлять собой биопсийный материал, такой как культивируемые клетки. Такие клетки можно обрабатывать с использованием обычных методик культивирования клеток, известных в данной области техники. Такие клетки могут представлять собой циркулирующие опухолевые клетки. В некоторых вариантах реализации образец опухоли может представлять собой биопсийный материал, такой как зафиксированный в формалине и залитый парафином (FFPE) образец опухолевой ткани. Как известно в данной области техники, биопсийный материал можно поместить в контейнер с формалином (смесь воды и формальдегида) или какой-то другой жидкостью для его консервации. Образец ткани можно поместить в форму с горячим парафиновым воском. Воск охлаждается с образованием твердого блока, который защищает ткань. Этот блок из парафинового воска с залитой тканью помещают на микротом, который нарезает очень тонкие срезы ткани. В определенных вариантах реализации образец опухоли содержит менее приблизительно 100 мг ткани или в определенных вариантах реализации содержит приблизительно 50 мг ткани или меньше. Образец ткани (или биопсийный материал) может содержать от приблизительно 20 до приблизительно 50 мг ткани, например приблизительно 35 мг ткани. Ткань можно получить, например, как результат одной или более (например, 1, 2, 3, 4 или 5) биопсий иглой (например, с использованием иглы 14 размера по шкале Гейдж (2,1 мм) или другого подходящего размера). В некоторых вариантах реализации биопсия представляет собой тонкоигольную аспирационную биопсию, при которой длинную тонкую иглу вводят в подозреваемую область и используют шприц для забора жидкости и клеток для анализа. В других вариантах реализации биопсия представляет собой толстоигольную биопсию, при которой используют большую иглу с режущим кончиком в ходе толстоигольной биопсии для забора колонки ткани из подозрительной области. В некоторых вариантах реализации биопсия представляет собой вакуумную биопсию, при которой аспиратор увеличивает количество жидкости и клеток, которые экстрагируют через иглу. В некоторых вариантах реализации биопсия представляет собой биопсию под визуальным контролем, при которой биопсия иглой сочетается с процедурой визуализации, такой как, например, рентгенография, компьютерная томография (КТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) или ультразвук. В других вариантах реализации образец можно получить с помощью устройства, такого как биопсийная система MAM MOTOME®, которая представляет собой систему вакуумной биопсии под управлением лазера для биопсии молочной железы.

В некоторых вариантах реализации способы диагностики и прогнозирования и/или оценки могут задавать направление лечения (включая лечение лекарственными средствами, описанными в настоящем документе). В одном из вариантов реализации оценка может задавать применение или отказ от применения адьювантной терапии после резекции. Адьювантная терапия, также называемая адьювантной помо-

стью, представляет собой лечение, которое предоставляется дополнительно к первичному, основному или исходному лечению. В качестве неограничивающего примера адъювантная терапия представляет собой дополнительное лечение, обычно предоставляемое после хирургической операции, при которой были удалены все обнаруживаемые заболевания, но когда остается статистический риск возврата болезни по причине скрытого заболевания. В некоторых вариантах реализации лекарственных средства, описанные в настоящем документе, применяют в качестве адъювантной терапии при лечении рака. В некоторых вариантах реализации лекарственных средства, описанные в настоящем документе, применяют в качестве единственной адъювантной терапии при лечении рака. В некоторых вариантах реализации лекарственных средства, описанные в настоящем документе, отказываются применять в качестве адъювантной терапии при лечении рака. Например, если у пациента, вероятно, не будет наблюдаться ответа на лекарственное средство, описанное в настоящем документе, или будет наблюдаться минимальный ответ, лечение можно и не применять в интересах качества жизни и чтобы избежать лишнюю токсичность из-за неэффективных химиотерапевтических средств. В подобных случаях можно использовать паллиативную помощь.

В некоторых вариантах реализации лекарственных средства, описанные в настоящем документе, применяют в качестве неoadъювантной терапии перед резекцией. В определенных вариантах реализации неoadъювантная терапия относится к терапии для уменьшения и/или снижения опухоли перед любым хирургическим вмешательством. В некоторых вариантах реализации неoadъювантная терапия означает применение химиотерапии в отношении раковых больных перед хирургическим вмешательством. В некоторых вариантах реализации неoadъювантная терапия означает введение лекарственного средства, описанного в настоящем документе, раковым больным перед хирургическим вмешательством. Типы рака, для которых, как правило, рассматривается неoadъювантная терапия, включают, например, рак молочной железы, колоректальный рак, рак яичников, рак шейки матки, рак мочевого пузыря и рак легкого. В некоторых вариантах реализации лекарственных средства, описанные в настоящем документе, применяют в качестве неoadъювантной терапии при лечении рака. В некоторых вариантах реализации применяют перед резекцией. В некоторых вариантах реализации лекарственных средства, описанные в настоящем документе, отказываются применять в качестве неoadъювантной терапии при лечении рака. Например, если у пациента, вероятно, не будет наблюдаться ответа на лекарственное средство, описанное в настоящем документе, или будет наблюдаться минимальный ответ, лечение можно и не применять в интересах качества жизни и чтобы избежать лишнюю токсичность из-за неэффективных химиотерапевтических средств. В подобных случаях можно использовать паллиативную помощь.

Субъекты и/или животные.

В некоторых вариантах реализации субъект и/или животное представляет собой млекопитающее, например человека, мышь, крысу, морскую свинку, собаку, кошку, лошадь, корову, свинью, кролика, овцу или примата, не являющегося человеком, такого как обезьяна, шимпанзе или павиан. В других вариантах реализации субъект и/или животное не является млекопитающим, таким, например, как данио. В некоторых вариантах реализации субъект и/или животное может содержать флуоресцентно меченые клетки (например, зеленым флуоресцирующим белком (ЗФБ)). В некоторых вариантах реализации субъект и/или животное представляет собой трансгенное животное, содержащее флуоресцентную клетку.

В некоторых вариантах реализации субъект и/или животное представляет собой человека. В некоторых вариантах изобретения человек представляет собой ребенка. В других вариантах реализации человек представляет собой взрослого человека. В других вариантах реализации человек представляет собой пожилого человека. В других вариантах реализации человек может обозначаться как пациент.

В определенных вариантах реализации возраст человека находится в диапазоне от приблизительно 0 до приблизительно 6 месяцев, от приблизительно 6 до приблизительно 12 месяцев, от приблизительно 6 до приблизительно 18 месяцев, от приблизительно 18 до приблизительно 36 месяцев, от приблизительно 1 до приблизительно 5 лет, от приблизительно 5 до приблизительно 10 лет, от приблизительно 10 до приблизительно 15 лет, от приблизительно 15 до приблизительно 20 лет, от приблизительно 20 до приблизительно 25 лет, от приблизительно 25 до приблизительно 30 лет, от приблизительно 30 до приблизительно 35 лет, от приблизительно 35 до приблизительно 40 лет, от приблизительно 40 до приблизительно 45 лет, от приблизительно 45 до приблизительно 50 лет, от приблизительно 50 до приблизительно 55 лет, от приблизительно 55 до приблизительно 60 лет, от приблизительно 60 до приблизительно 65 лет, от приблизительно 65 до приблизительно 70 лет, от приблизительно 70 до приблизительно 75 лет, от приблизительно 75 до приблизительно 80 лет, от приблизительно 80 до приблизительно 85 лет, от приблизительно 85 до приблизительно 90 лет, от приблизительно 90 до приблизительно 95 лет или от приблизительно 95 до приблизительно 100 лет.

В других вариантах реализации субъект представляет собой отличное от человека животное, и, следовательно, изобретение относится к ветеринарному применению. В конкретном варианте реализации отличное от человека животное представляет собой домашнего питомца. В другом конкретном варианте реализации отличное от человека животное представляет собой сельскохозяйственное животное.

Наборы.

Согласно изобретению предложены наборы, которые могут упростить введение любого описанного в данном документе средства. Приводимый в качестве примера набор согласно настоящему изобретению содержит любую композицию, описанную в данном документе, в виде единичной лекарственной формы. В одном из вариантов реализации изобретения единичная лекарственная форма представляет собой контейнер, такой как предварительно наполненный шприц, который может быть стерильным, содержащим любое средство, описанное в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель, вспомогательное вещество или наполнитель. Набор может дополнительно содержать этикетку или распечатанные инструкции по применению любого средства, описанного в данном документе. Набор также может содержать векорасширитель, местный анестетик и очищающее средство для места введения. Набор также может дополнительно содержать одно или более дополнительное средство, описанное в данном документе. В одном из вариантов реализации набор содержит контейнер, содержащий эффективное количество композиции согласно настоящему изобретению и эффективное количество другой композиции, такой как те, что описаны в данном документе.

Определения.

Следующие определения используются в связи с настоящим изобретением, описанным в данном документе. Если не указано иное, все используемые в данном документе технические и научные термины имеют те же значения, которые обычно подразумеваются специалистом в данной области техники, к которой относится данное изобретение.

Используемая в данном документе форма единственного числа может означать один или более одного объекта.

Кроме того, термин "приблизительно", используемый в связи с упоминаемым численным обозначением, означает упоминаемое численное обозначение плюс-минус 10% от данного упоминаемого численного обозначения. Например, выражение "приблизительно 50" охватывает диапазон от 45 до 55.

Термин "эффективное количество" при использовании в связи с применениями в медицинских целях представляет собой количество, эффективно обеспечивающее измеримое лечение, профилактику или снижение скорости патогенеза рассматриваемого заболевания.

Как используется в настоящем описании, что-либо "понижается", если считываемые параметры активности и/или эффекта снижаются на значительную величину, например по меньшей мере приблизительно на 10%, по меньшей мере приблизительно на 20%, по меньшей мере приблизительно на 30%, по меньшей мере приблизительно на 40%, по меньшей мере приблизительно на 50%, по меньшей мере приблизительно на 60%, по меньшей мере приблизительно на 70%, по меньшей мере приблизительно на 80%, по меньшей мере приблизительно на 90%, по меньшей мере приблизительно на 95%, по меньшей мере приблизительно на 97%, по меньшей мере приблизительно на 98% или более, до и включая по меньшей мере приблизительно 100% в присутствии средства или стимула по сравнению с отсутствием подобной модуляции. Как будет понятно среднему специалисту в данной области техники, в некоторых вариантах реализации активность снижается и некоторые считывания по ходу нее снизятся, но другие могут увеличиться.

В свою очередь, активность "повышена" если считывание активности и/или эффекта повышается на значительное количество, например по меньшей мере приблизительно на 10%, по меньшей мере приблизительно на 20%, по меньшей мере приблизительно на 30%, по меньшей мере приблизительно на 40%, по меньшей мере приблизительно на 50%, по меньшей мере приблизительно на 60%, по меньшей мере приблизительно на 70%, по меньшей мере приблизительно на 80%, по меньшей мере приблизительно на 90%, по меньшей мере приблизительно на 95%, по меньшей мере приблизительно на 97%, по меньшей мере приблизительно на 98% или более, до и включая по меньшей мере приблизительно 100% или более, по меньшей мере в 2 раза, по меньшей мере в 3 раза, по меньшей мере в 4 раза, по меньшей мере в 5 раз, по меньшей мере в 6 раз, по меньшей мере в 7 раз, по меньшей мере в 8 раз, по меньшей мере в 9 раз, по меньшей мере в 10 раз, по меньшей мере в 50 раз, по меньшей мере в 100 раз в присутствии средства или стимула по сравнению с отсутствием подобного средства или стимула.

Упомянутые в настоящем описании все процентные доли в составе композиций представляют собой проценты от общей массы композиции, если не указано иное. Используемое в настоящем документе слово "включать" и его варианты не предполагает ограничения, поэтому перечисление элементов в списке не предусматривает исключения других подобных элементов, которые также можно использовать в композициях и способах согласно данной технологии. Аналогичным образом, термины "может" и "можно" и их варианты не предполагают ограничения, поэтому упоминание того, что вариант реализации может содержать некоторые элементы и признаки, не исключает других вариантов реализации настоящей технологии, которые не содержат этих элементов или признаков.

Хотя открытый термин "содержащий" в качестве синонима терминов, таких как "включающий" или "имеющий", используется в настоящем документе для описания настоящего изобретения и в формуле настоящего изобретения, настоящее изобретение или варианты его реализации можно альтернативно

описать с использованием таких альтернативных терминов, как "состоящий из" или "состоящий по существу из". Используемые в настоящем описании слова "предпочтительный" и "предпочтительно" относятся к вариантам реализации технологии, которые предоставляют определенные преимущества при определенных обстоятельствах. Однако другие варианты реализации также могут быть предпочтительными при тех же или других условиях. Кроме того, упоминание одного или более предпочтительных вариантов реализации не подразумевает, что другие варианты реализации являются невозможными для применения, и не подразумевает исключения других вариантов реализации из объема настоящей технологии.

Количество композиций, описанных в настоящем документе, необходимое для достижения терапевтического эффекта, можно определить эмпирически в соответствии с традиционными процедурами для конкретной цели. В целом, для введения лекарственных средств (например, композиций, относящихся к флагеллину, (и/или дополнительных средств), описанных в настоящем документе) для терапевтических целей лекарственные средства дают в фармакологически эффективной дозе. Термины "фармакологически эффективное количество", "фармакологически эффективная доза", "терапевтически эффективное количество" или "эффективное количество" относятся к количеству, достаточному для получения требуемого физиологического эффекта, или количеству, с помощью которого можно достичь требуемого результата, в частности, при лечении нарушения или заболевания. Эффективное количество, как используется в настоящем описании, будет включать количество, достаточное, например, для задержки развития симптома нарушения или заболевания, изменения хода развития симптома нарушения или заболевания (например, замедления прогрессирования симптома заболевания), уменьшения или устранения одного или более симптомов или проявлений нарушения или заболевания и регрессии симптома нарушения или заболевания. Например, введение лекарственных средств пациенту, страдающему от рака, обеспечивает благоприятный терапевтический эффект не только при устранении или смягчении первопричинного патологического состояния, но также если пациент сообщает о снижении тяжести или продолжительности симптомов, связанных с заболеванием, например снижении опухолевой нагрузки, снижении количества циркулирующих опухолевых клеток, увеличении выживаемости без прогрессирования. Благоприятный терапевтический эффект также включает остановку или замедление прогрессирования первопричинного заболевания или нарушения независимо от того, наступило ли улучшение. Эффективные количества, токсичность и терапевтическую эффективность можно оценить с помощью стандартных фармацевтических процедур на культурах клеток или экспериментальных животных, например, для определения LD₅₀ (доза, смертельная для приблизительно 50% популяции) и ED₅₀ (доза, терапевтически эффективная у приблизительно 50% популяции). Дозировка может меняться в зависимости от используемой лекарственной формы и применяемого способа введения. Соотношение доз, оказывающих токсическое и терапевтическое действие, представляет собой терапевтический индекс и может быть выражено в виде соотношения LD₅₀/ED₅₀. В некоторых вариантах реализации предпочтительными являются композиции и способы, которые показывают высокие терапевтические индексы. Терапевтически эффективную дозу можно изначально определить с помощью анализов *in vitro*, включая, например, анализ с использованием клеточных культур. Также дозу можно сформулировать на животных моделях с целью достижения диапазона циркулирующей концентрации в плазме, включающего IC₅₀ (50% ингибирующую концентрацию), как определено для клеточной культуры или на соответствующей животной модели. Уровни описанных композиций в плазме можно измерить, например, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Действие конкретной дозировки можно отслеживать с помощью подходящего биоанализа. Дозировка может быть определена лечащим врачом и скорректирована при необходимости в соответствии с наблюдаемым действием лечения.

В определенных вариантах реализации действие приведет к количественно определяемому изменению по меньшей мере приблизительно на 10%, по меньшей мере приблизительно на 20%, по меньшей мере приблизительно на 30%, по меньшей мере приблизительно на 50%, по меньшей мере приблизительно на 70% или по меньшей мере приблизительно на 90%. В некоторых вариантах реализации действие приведет к количественно определяемому изменению приблизительно на 10%, приблизительно на 20%, приблизительно на 30%, приблизительно на 50%, приблизительно на 70% или даже приблизительно на 90% или более. Благоприятный терапевтический эффект также включает остановку или замедление прогрессирования первопричинного заболевания или нарушения независимо от того, наступило ли улучшение.

В определенных вариантах реализации фармакологически эффективное количество, которое будет лечить рак, будет модулировать симптомы, как правило, по меньшей мере приблизительно на 10%, по меньшей мере приблизительно на 20%, по меньшей мере приблизительно на 30%, по меньшей мере приблизительно на 40% или по меньшей мере приблизительно на 50%. В приводимых в качестве примера вариантах реализации подобные модуляции приведут, например, к статистически значимым и количественно определяемым изменениям количества раковых клеток. Данное изобретение дополнительно проиллюстрировано следующими неограничивающими примерами.

Примеры

Пример 1. Конструирование композиций, относящихся к флагеллину, с улучшенной эффективностью по сравнению с CBLB502.

(а) Анализ соотношения структура-активность (SAR).

Результаты анализа, которые включали комбинацию сайт-направленного мутагенеза и делеций показаны на фиг. 2. Получившиеся в результате варианты CBLB502 экспрессировали в *E.coli*, очищены и охарактеризованы по (i) относительной связывающей аффинности в бесклеточных системах с помощью конкурентного анализа флуоресцентной поляризации (ФП) с рекомбинантным очищенным фрагментом эктодомена TLR5, полученного от рыб, и (ii) относительной эффективности сигнализации с помощью анализа на клетках репортерного гена люциферазы с использованием CBLB502 дикого типа в качестве стандарта (как описано в Yoon et al. (2012)). Этот анализ подтвердил роль аминокислотных сегментов и определенных остатков домена D1 в образовании первичной и вторичной пограничных поверхностей, предсказанных по 3D структуре (фиг. 3). Он также показал важное значение домена D0 для активации сигнализации (но не первичного связывания), хотя действительная роль данного домена остается неизвестной. Данный анализ также показал, что только С-концевой сегмент домена D0 (C_D0) является существенным, тогда как N-концевой сегмент может быть удален без потери сигнальной активности (как, например, у варианта с делецией S33 (SEQ ID NO: 17)).

Анализ *in vivo* сигнальной активности мутантов по первичной и вторичной внутренней поверхности, а также варианта с делецией дельта-D0 белка CBLB502, показал корреляцию с данными по активации сигнализации, полученными *in vitro*. Это было установлено путем инъекции различных доз соответствующих мутантов (рекомбинантных очищенных и лишенных токсичности белков) репортерным мышам с люциферазой под контролем NF-κB и измерения активности в различных органах (см. фиг. 4, области А-Е).

Вкратце, репортерным мышам с люциферазой под контролем NF-κB вводили п/к мутантов CBLB502 (по три мыши на группу), как указано. Используемые относительные количества инъекции основывались на их эффективности сигнализации в анализах на клетках репортерного гена под контролем NF-κB. Органы собирали спустя 3 ч после инъекции и мгновенно замораживали в сухом льде. Гомогенаты тканей готовили путем измельчения органов с последующим лизисом с использованием буфера для радиоиммунопреципитационного анализа (РИПА) с добавкой ингибиторов протеаз. Для люциферазных анализов 20 мкл каждого лизата смешивали с 30 мкл реагента люциферина (система люциферазного анализа Bright-Glo, Promega Inc.) и количественно определяли люциферазную активность с помощью люцинометра. Люциферазную активность нормализовали на основе концентрации белка, измеренной с использованием метода Бредфорда. Результаты показали, что в то время как ответ в печени, наблюдаемый для мутанта S33, был умеренно повышен приблизительно в 3 раза, этот мутант показал намного более сильное увеличение ответа (более 10 раз при той же дозе в 0,3 мкг), наблюдаемое в мочевом пузыре и толстом кишечнике.

В ходе дополнительного систематического анализа соотношения структура-активность было получено и охарактеризовано большое количество усеченных вариантов первоначально по сигнальной активности (с использованием анализа на основе люциферазы или стандартного анализа биоактивности CBLB502 с использованием LacZ-репортерной системы). Эти делеции (частично проиллюстрированные диаграммами на фиг. 5) позволяют уточнить границы минимального необходимого ядра и рассмотреть потенциальную значимость длины (от 33 аминокислот до 12 аминокислот) и положения метки (N-концевое против С-концевым), а также проверить возможность минимизировать линкерную область (как у конструкции "33ML" (SEQ ID NO: 35)).

Перечень вариантов CBLB502, содержащий подробный анализ соотношения структуры-активность, представлен в табл. 2. Среди наиболее важных наблюдений, без ограничения теорией, является принципиальная возможность удалить по меньшей мере половину природного сегмента C_D0, оставляя только его N-концевую половину (470-485), кэпированную С-концевой His-меткой (наличие кэпа является существенным для проявления активности, так как вариант 33-485 теряет приблизительно 90% сигнальной активности, см. табл. 2). Эти наблюдения в совокупности предполагают, без ограничения теорией, что домен D0 вносит только незначительный (если вообще какой-либо) вклад в прямые взаимодействия с TLR5, и его роль может быть ограничена поддержанием структурной целостности домена D1. С другой стороны, оставшийся сегмент C_D0 (470-485) не может быть удален или заменен С-концевой половиной C_D0 (485-504) или другими последовательностями (например, фрагментом ЗФБ, как в CGD1, или сегментом N-D0, как в новой конструкции MF233 (SEQ ID NO: 123), см. табл. 2). В то же время некоторые полярные остатки можно заменить аланином в данном сегменте без заметной потери активности (см. табл. 2).

Варианты CBLB502 с делециями/слиянниями

ID варианта CBLB 502	Краткое описание	Длина (ак)	Модульная композиция (дизайн)	Цели	Выводы	Относительная ЕС50 относительно 502			
						Связывание (Ф11)	Активация сигнализации (Luc)	Активация сигнализации (LucZ)	
502	Начальная точка – исходная конструкция	329	6xH-ЕК-метка (приблизительно 33 ак; «N-метка-HEK») -ND0_ND1* (1-175) - линкер16 – CD1_CD0* (401-504). (* ак 32-44: N-концевая область спяцы (NS); ак 464-469: C-концевая область спяцы (CS))			1,0	1,0	1,0	
SY3	Дельта D0; ранее описана	262	6xH-тромбин-метка (37 ак; «N-метка-HT») -ND1 (начало с ак 33) - линкер16 – CD1 (окончание на ак 466)			2,9	185	309	
1	445	Дельта D0; усеченный CD1	272	N-метка-HT –ND0_ND1 - линкер16 – CD1 (окончание на ак 443)	Важность C-концевого фрагмента домена D0 (CD0) и 26 C-концевых ак фрагмента D1 (CD1) в активации сигнализации?	Удаление только одного фрагмента CD0 имеет значительный эффект – активность приблизительно в 50-100 раз ниже. Дополнительное усечение 26 C-концевых ак фрагмента CD1 приводит к практически полной потере активности (по меньшей мере снижено в 700 раз)	0,4	141000	694
2	461	Дельта CD0; усеченный CD1	289	N-метка-HT –ND0_ND1 - линкер16 – CD1 (окончание на ак 460)		нет данных	97	105	
3	467	Дельта CD0;	295	N-метка-HT –ND0_ND1 - линкер16 – CD1 (окончание на ак 466)		нет данных	1,0	71	57
4	470CT	Дельта CD0; минимальная C-метка	274	ND0 - ND1 - линкер16 – CD1 (окончание на ак 469) – тромбин-6xH-метка (13 ак; C-метка)		нет данных	44	38	
5	S33	Дельта ND0; N-концевая метка	300	N-метка-HT – ND1 (начало с ак 33) - линкер16 – CD1 – CD0	[Вариант CBLB502-S33 был охарактеризован in vivo]	[Вариант S33 показал улучшенную ФК и более высокую активность in vivo по ФД, мышкам с геном Luc и защите от ралланин]	0,8	1,4	нет данных
6	33CT	Дельта ND0; C-концевая метка	275	ND1 (начало с ак 33) - линкер16 – CD1 – CD0 – C-метка		нет данных	2,3	нет данных	
7	37CT	Дельта ND0	273	ND1 (начало с ак 37) - линкер16 – CD1 – CD0 – C-метка		нет данных	3,2	нет данных	
8	N45	Дельта ND0	288	N-метка-HT – ND1 (начало с ак 45) - линкер16 – CD1 – CD0		Удаление фрагмента ND0 и усечение NS оказывает незначительное воздействие на активность (снижение в 1,5-3,5 раза), независимо от положения метки.	нет данных	3,6	нет данных
9	45 CT	Дельта ND0	285	ND1 (начало с ак 45) - линкер16 – CD1 – CD0 – «Длинная» C-метка (34 ак)		нет данных	3,5	нет данных	
10	33-485	Дельта ND0; усеченный CD0	281	N-метка-HT – ND1 (начало с ак 33) - линкер16 – CD1 – CD0 (окончание на ак 485)	Минимальный значимый фрагмент CD0?	Усечение 20 C-концевых ак домена CD0 приводит к снижению в 11 раз активности	нет данных	11	нет данных
11	33 ML	Дельта ND0; минимизированный линкер; усеченный CD1	250	ND1 (начало с ак 33) – линкер3 – CD1 (начало с ак 413) – CD0 – C-метка	Проверить гипотезу, опирающуюся на структуру – минимизировать линкер и начать CD1 с ак 413 (401 в CBLB502). Подтверждено	нет данных	1,5	1,3	
12	MF227C	На основе 33ML; делеция в пределах CD0	227	ND1 (начало с ак 33) – линкер3 – CD1 – CD0 (удаленные ак 470-492) - C-метка	Продолжение проверки дополнительной минимизации на фоне варианта 33ML.	N-концевая часть CD0 является значимой (5-кратная потеря)	нет данных	нет данных	5,5
13	MF227N	На основе 33ML; усеченный ND1	227	ND1 (ак 33-152) – линкер3 – CD1 – CD0 – C-метка		C-концевая часть ND1 (ак 153-175, линкер) является неизменной	нет данных	нет данных	159
14	485CT	На основе 33ML; усеченный CD0	233	ND1 – линкер3 – CD1 – CD0 (окончание на ак 485) - C-метка		Частично домен CD0 (ак 470-485) – C-концевой «кэп» (тромбин/6xHIS-метка) сохраняет полную активность по сравнению с 11-кратной потерей при варианте с 33-485 ак с N-меткой	нет данных	нет данных	1,2
15	485D	На основе 485CT; делеция Q439:F442	229	ND1 – линкер3 – CD1 – CD0 (окончание на ак 485) - C-метка; делеция Q439:F442		Неблагоприятно (44-кратная потеря) – задеет границы	нет данных	нет данных	44
16	SY3CT	Дельта D0; минимальный линкер; C-концевая метка	217	ND1 – линкер3 – CD1 - C-метка	Гипотеза: C-концевое копирование домена D1 C-меткой может давить в результате самый короткий активный вариант.	Верно только частично: этот вариант приблизительно в 20 раз активнее, чем вариант с N-концевой меткой (SY3). Все равно хуже, чем 502 в 16 раз.	нет данных	нет данных	16
17	NGD1	Слитый белок: N-концевой фрагмент ЗФБ (1-157) – D1	380	ЗФБ (ак 1-157) – линкер7 – ND1 – линкер3 – CD1 – C-метка	Гипотеза: (1) копирование (N-концевое и C-концевое по отдельности или вместе) одного домена D1 может его стабилизировать и сделать активным. Авторы использовали N-концевые и C-концевые фрагменты ЗФБ для копирования. (2) Слияние N- и C-концевых фрагментов ЗФБ с доменом D1 вместо D0 (мутант GD1G) может стабилизировать домен D1 и позволит проводить наблюдения за его стабилизированной конформацией через восстановление флуоресценции ЗФБ*		нет данных	нет данных	58
18	CGD1	Слитый белок: D1 - C-концевой фрагмент ЗФБ (158-238)	303	ND1 – линкер3 – CD1 – линкер7 – ЗФБ (ак 158-238) – C-метка		(1) N-концевой ЗФБ-кэп не помогает. C-концевой кэп приводит активность к 1/8 части от активности 502; (2) слитый белок с ЗФБ был флуоресцентным, но не активным	нет данных	нет данных	8
19	GD1G	Слитый белок: N-ЗФБ (1-157) – D1 – C-ЗФБ (158-238)	466	ЗФБ (ак 1-157) – линкер7 – ND1 – линкер3 – CD1 – линкер7 – ЗФБ (ак 158-238) - C-метка			нет данных	нет данных	259
20	CPM194	Кольцевой пермутант CD1 (413-469) // ND1 (33-152)	194	CD1 – линкер3 – ND1 (окончание на ак 152) – C-метка	Исследование альтернативных подходов к стабилизации домена D1 с использованием методики кольцевой пермутации	Пока безуспешно. Один белок не свернулся. Другой свернулся, но не активен.	нет данных	нет данных	отсутствует
21	CPM217	Кольцевой пермутант CD1 (413-469) // ND1 (33-175)	217	CD1 – линкер3 – ND1 (окончание на ак 175) – C-метка			нет данных	нет данных	1112

Ghosh, I., Hamilton, A.D. & Regan, L. Antiparallel leucine zipper-directed protein reassembly: application to the green fluorescent protein. *J. Am. Chem. Soc.* 122, 5658-5659 (2000)

Jeong, J., et al. Monitoring of conformational change in maltose binding protein using split green fluorescent protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 339, 647-651. (2006)

Latz, e, Verma, A., Visintin, F., Gong, M., Sirois, CM, et al. (2007) Ligand-induced conformational changes allosterically activate Toll-like receptor 9. *Nature. Immunology* 8, 772-779.

В итоге, вариант CBLB502-485CT ("CBLB533" (SEQ ID NO: 71)) показывает результат максимальной минимизации CBLB502 без потери сигнальной активности (по меньшей мере, in vitro). Этот вариант (длиной в 233 аминокислоты) является на 30% короче, чем CBLB502 (329 аминокислот), (см. фиг. 5).

Характеризацию in vivo выполняли для ключевых промежуточных вариантов при минимизации - CBLB502-S33 (SEQ ID NO: 17) с удаленным сегментом N_D0 и оригинальной N-концевой меткой длиной в 33 аминокислоты (фиг. 5). Соответствующие рекомбинантные очищенные белки демонстрировали практически полную сигнальную активность in vitro (табл. 2). Примечательно, что первые результаты тестов in vivo на репортерных мышках с люциферазным геном под контролем NF-κB, которые выполняли параллельно с CBLB502, показали значительно более высокую активность CBLB502-S33 in vivo (фиг. 6) на основе системы визуализации Xenogen. Дополнительные количественные анализы люциферазной ак-

тивности в отдельных органах показали, что в то время как ответ в печени был умеренно повышен, приблизительно в 3 раза, намного большее усиление ответа (более 10 раз при той же дозе в 0,3 мкг), наблюдали в мочевом пузыре и толстом кишечнике (фиг. 7).

Важно, что усиленный ответ также наблюдали при уровне активности радиозащиты (фиг. 8).

Без ограничения теорией, эти наблюдения предполагают, что минимизированный вариант CBLB502 может быть эффективно использован при показаниях против острой лучевой болезни (ОЛБ) при более низких дозах. Эта увеличенная активность может быть проявлена режимом ослабления воздействия радиации (введение после облучения). Это предположение подтверждается наблюдаемыми более сильными цитокиновыми ответами (фиг. 9), включая ключевые цитокины (Г-КСФ и ИЛ-6), выбранными в качестве биомаркеров фармакодинамики (ФД) CBLB502, и доказано являющимися существенными для механизма его активности по ослаблению воздействия радиации (Burdelya et al., 2008). Очевидным объяснением для коррелирующего усиления активности *in vivo* CBLB502-S33 при уровне активации сигнализации NF-κB, радиозащиты и выработки цитокинов (ФД) является, по существу, улучшенная фармакокинетика (ФК) (фиг. 10). Увеличенное сохранение CBLB502-S33 в плазме может отражать более высокую стабильность в отношении протеолиза или, вероятнее, менее эффективный "захват" в определенных органах/тканях (например, в печени) и более медленное выведение из кровотока, таким образом увеличивая воздействие на другие ткани. Последнее объяснение обеспечивает дополнительные доказательства вклада подобных тканей (например, клеток периферической крови) в механизм действия лекарственного средства. В качестве неограничивающего итога характеристика CBLB502-S33 показала, что анализ соотношения структура-активность и итеративная минимизация предоставляют биологически активные варианты белка с улучшенными фармакологическими свойствами. Данную информацию использовали для разработки, получения генно-инженерным способом и характеристики окончательного дизайна CBLB533.

Результаты анализа соотношения структура-активность предлагают окончательный дизайн CBLB533, основанный на варианте CBLB502-485CT (с дополнительными мутациями или без них). Данный белок можно получить в достаточном количестве и охарактеризовать *in vivo* подобно анализу, выполненному для промежуточного ведущего кандидата CBLB502-S33, дополнительно расширенному проверкой свойств по ослаблению воздействия радиации. Важно, они обеспечивают оптимальный каркас для разработки деиммунизированного кандидата лекарственного средства следующего поколения (Nextgen) CBLB543.

Пример 2. Конструирование композиций со сниженной антигенностью по сравнению с CBLB502.

Анти-CBLB502 антитела (предсуществующие и/или появившиеся в результате лечения CBLB502), демонстрирующие нейтрализующую активность *in vitro*, также должны нейтрализовать его сигнальную активность по активации NF-κB (и, следовательно, терапевтическую активность). Это было подтверждено прямым экспериментом на мышах (фиг. 11). Действительно, инъекция нейтрализующих CBLB502 сывороток или моноклональных антител мышам с люциферазным геном под контролем NF-κB полностью уничтожает люциферазную активность в лизатах органов (живых). В этом эксперименте пяти группам репортерных мышей с люциферазным геном под контролем NF-κB (по 3 на группу) вводили с помощью внутривенной инъекции (1) ФБР, (2) не нейтрализующую сыворотку, (3) нейтрализующую сыворотку (кровотечение на 15 день), (4) моноклональное антитело (MAT) 7C, (5) MAT 11D и животным пускали кровь после 45 мин. Моноклональные антитела использовали при дозе 100 мкг на мышь. CBLB502 (1 мкг) вводили подкожно всем мышам спустя 1 ч после первоначальной инъекции антител. Осуществляли визуализацию животных спустя 3 ч после инъекции CBLB502 и собирали печень для получения лизатов. Результаты данного исследования представлены в табл. 3.

Специфическая активность люциферазы измеряли согласно следующему протоколу. С помощью измельчителя Bio-pulverizer дробили образцы печени на сухом льде. Добавляли 750 мкл 1× репортерного лизисного буфера (Promega, кат. № E397A) + 1× коктейль ингибиторов протеаз (PIC, sigma P8340) и центрифугировали гомогенизированную смесь при 13,000 об/мин при 4°C в течение 30 мин. Собирали супернатант в чистые пробирки эппендорфа и измеряли концентрацию белка в супернатанте. Добавляли 20 мкл супернатанта и 20 мкл люциферазного буфера (Promega E2620). Нормализовали всё по образцу с самой низкой концентрацией белка и добавляли в соответствии с этим, корректировали объем супернатанта с использованием лизирующего буфера с коктейлем ингибиторов протеаз. Люциферазную активность измеряли на люминесцентном спектрофотометре для чтения планшетов.

Таблица 3

Результаты анализа анти-CBLB502 антител

№ образца	ID образца	Исследуемая группа	Ингибирование нейтрализующими антителами, %	Титр анти-CBLB502-антител
1	#1-1	ФСБ	-1,08	0
2	#1-2	ФСБ	-4,68	0
3	#1-3	ФСБ	0,51	0
4	#2-1	Не нейтрализующая сыворотка человека	1,77	0
5	#2-2	Не нейтрализующая сыворотка человека	-5,38	0
6	#2-3	Не нейтрализующая сыворотка человека	0,15	0
7	#3-1	Нейтрализующая сыворотка человека	77,37	0
8	#3-2	Нейтрализующая сыворотка человека	84,04	19462
9	#3-3	Нейтрализующая сыворотка человека	83,52	20879
10	#4-1	Не нейтрализующие МАТ 7С	5,18	17000
11	#4-2	Не нейтрализующие МАТ 7С	1,21	791
12	#4-3	Не нейтрализующие МАТ 7С	2,63	858
13	#5-1	Нейтрализующие МАТ 11D	44,81	114496
14	#5-2	Нейтрализующие МАТ 11D	49,41	87249
15	#5-3	Нейтрализующие МАТ 11D	54,48	109475

*Сыворотки человека были разбавлены в 10 раз с помощью ФБР для инъекций.

**Оба МАТ, 7С и 11D, имели концентрацию 2 мг/мл в ФБР для инъекций.

***Образцы сывороток мышей собирали спустя 1 час после инъекции антител.

Краткий обзор представлен ниже и проиллюстрирован в табл. 4 и 5 и на фиг. 12.

Таблица 4

Картирование эпитопов СВLB502 и деиммунизация

Белок	Каркас	Мутации	Длина (аминокислоты)	Активность сигнализации	Нейтрализация антителами (улучшение IC50 по сравнению с502)								Примечание
				ЕС50, нормализованная по СВLB502	mAb4D11	mAb1D04	NSP79	NSP85	NSP99	NSP61	NSP103	P12	
MIM1	на основе 502	N455A; N457A	329	0,9	Без улучшения нейтрализации с любым из антител								1
MIM2	на основе 502	N455A; N457A; R460A	329	1,2									
MIM3	на основе 502	N448A; N451A; N455A, N457A; R460A	329	4,6									
MIM4	на основе 502	делеция Q439::F442; N448A; N451A; N455A, N457A; R460A	329	37									
MIM5	на основе 502	Q439A; N440K; R441A; N448A; N451A; N455A, N457A; R460A	329	54									
33MIMX	на основе S33	N68A; F131A; Q142A; E153A; T154A; N440A; D443A; S444A; T447A	300	1,3	~10x	4-5X			2x		~3x	~2x	2
MIXN	на основе 33ML	N68A; F131A; Q142A; E153A; T154A	250	1,5	~10x	~10x					4-5X	4-5X	3
MIXC	на основе 33ML	N440A; D443A; S444A; T447A	250	1,5	~10x	~10x							3
ME42	на основе	D42A; A45G	250	1,3	4x	5x			2x	2x			4

	основ 33ML	N100::D113.Заменен линкером "GPSC"																
33MX	на основ 33ML	N68A; F131A; Q142A; E153; T154A; S104A; S106A; D107A; S110A; D113A; N132A; G133A; K144A; N127Q; N474Q	250	1,3	>4x	>4 x	>2 x	>2 x					6x	7x	5			

Таблица 5
Антигенность вариантов CBLB502 с делециями по определению титра антител (ELISA) с использованием многочисленных антисывороток человека

	Титры											
	Планшет 1 Сыворотка пациента #004 15 день, CBLB502	Планшет 2 Сыворотка пациента #006 15 день, CBLB502	Планшет 3 Сыворотка пациента #009 15 день, CBLB502	Планшет 4 Сыворотка пациента #010 15 день, CBLB502	Планшет 5 Сыворотка пациента #012 15 день, CBLB502	Планшет 6 Сыворотка пациента #008 без CBLB502	Планшет 7 Сыворотка пациента #013 без CBLB502	Планшет 8 MAT 7C Нет эффекта	Планшет 9 MAT 11D Нейтрализ ующие	Планшет 10 MAT 12 Нет эффекта	Планшет 11 Поликлональны с антитела козы Анализ CBLB502	Планшет 12 Сыворотка пациента #004 15 день, Анализ CBLB502
Делеция SY3	429687	319746	117275	261211	543635	3331	7023	1392	39297	11433	33248	41555
Делеция 467	414991	319843	160498	276131	626631	2413	8462	1619	39722	10233	35372	40853
Делеция S33	429436	322443	199057	264892	649834	9846	9490	1596	42485	11725	38755	39092
Делеция 445	67857	152052	21824	57521	150700	978	914	1470	8609	1577	40988	19077
CBLB502, станд. образец	519509	357298	296948	337398	761754	12082	23459	1547	52663	15364	59596	46738

	Титр в % от титра стандартного образца CBLB502											
	Планшет 1 Сыворотка пациента #004 15 день, CBLB502	Планшет 2 Сыворотка пациента #006 15 день, CBLB502	Планшет 3 Сыворотка пациента #009 15 день, CBLB502	Планшет 4 Сыворотка пациента #010 15 день, CBLB502	Планшет 5 Сыворотка пациента #012 15 день, CBLB502	Планшет 6 Сыворотка пациента #008 без CBLB502	Планшет 7 Сыворотка пациента #013 без CBLB502	Планшет 8 MAT 7C Нет эффекта	Планшет 9 MAT 11D Нейтрализ ующие	Планшет 10 MAT 12 Нет эффекта	Планшет 11 Поликлональны с антитела козы Анализ CBLB502	Планшет 12 Сыворотка пациента #004 15 день, Анализ CBLB502
Делеция SY3	83	89	39	77	71	28	30	90	75	74	56	89
Делеция 467	80	54	82	82	82	20	36	105	75	67	59	87
Делеция S33	83	90	67	79	85	81	40	103	81	76	65	84
Делеция 445	13	43	7	17	20	8	4	95	16	10	69	41
CBLB502, станд. образец	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Первоначальные исследования основывались на компьютерных прогнозах линейных эпитопов, сравнительном анализе антигенности (оцененном с помощью ELISA с серией образцов сыворотки человека) для серии усеченных вариантов и наблюдении, что вариант с делецией 445 (см. табл. 2 в части композиции) в значительной мере потерял антигенность, что указывает на существование основного эпитопа в пределах довольно короткого аминокислотного сегмента (440-470). Однако анализ антигенности у ряда мутантов, полученных на основе данной предпосылки, не подтвердил эти предположения (см. фиг. 12).

На основе этих наблюдений в последующей работе подход был скорректирован для использования предсказанных структурных (потенциально прерывистых) эпитопов (фиг. 13) при проверке промежуточных мутантов на "нейтрализующую антигенность", оцениваемую по величине ингибирования нейтрализующими антителами в анализе активации сигнализации. Авторы настоящего изобретения продвинулись от использования полноразмерного каркаса CBLB502 к первому усеченному ведущему варианту CBLB502-S33 (см. табл. 2 в части композиции) и его дополнительной модификации S33MX (SEQ ID NO: 150).

В первых сериях разработанных мутантов существенный прогресс был достигнут в части уменьшения чувствительности к нейтрализующим моноклональным антителам и нейтрализующим антисывороткам, направленным против CBLB502. Улучшение наблюдали на серии нормальных сывороток человека, содержащих измеримый титр неиндуцированных нейтрализующих антител.

Для решения этой проблемы были разработаны и охарактеризованы дополнительные серии мутанта.

В результате подобных итераций была картирована и устранена без потери сигнальной активности основная часть нейтрализующих эпитопов (см. табл. 4). Для получения генно-инженерным способом полностью активного "деиммунизированного" ведущего кандидата белка CBLB502 (CBLB543) были предприняты следующие шаги.

Данные по картированию эпитопов, полученные, как описано выше (см. табл. 5), обеспечили основу для окончательного дизайна деиммунизированного ведущего кандидата белка CBLB543 (CBLB502-S33MX (SEQ ID NO: 150)). Данный белок был сконструирован и охарактеризован по сигнальной активности (неизменная) и нейтрализующей антигенности. Как проиллюстрировано на фиг. 14 (для отдельных данных см. табл. 4), у этого белка нейтрализующая антигенность была значительно снижена по сравнению с CBLB502. Дополнительно сравнение с CBLB502-S33ML (SEQ ID NO: 35) усеченным каркасом, использованным для конструирования ведущего варианта, показывает, что причиной этого эффекта является комбинация мутаций, а не уменьшенный размер.

Пример 3 Активность и фармакологические свойства деиммунизированных вариантов (CBLB502-33MX и CBLB502-S33).

Были проведены исследования для оценки ФК/ФД свойств выбранных композиций, относящихся к флагеллину. Конкретно, ФК/ФД свойства частично деиммунизированного белка CBLB502-33MX сравнивали с ФК/ФД свойствами CBLB502. Соответственно, в ходе данного исследования установили функциональные и фармакологические характеристики сконструированного нового варианта CBLB502-33MX со значительно сниженной "нейтрализующей антигенностью" и тем самым, устойчивыми к нейтрализации нейтрализующими антителами человека в анализе активности сигнализации *in vitro*.

Прижизненная фаза ФК/ФД исследования: 320 мышей линии C57Bl6 использовали для эксперимента в группах по 10 мышей. Вводили внутривенно CBLB502 (1 и 2 мкг/кг) и 33MX (1 и 2 мкг/кг). Животных умерщвляли после 5, 15, 30 мин, 1, 2, 4, 8 и 24 ч после лечения и собирали образцы плазмы.

Измерения ФК: концентрацию CBLB502 и 33MX в образцах плазмы измеряли в соответствии со стандартным протоколом на основе ELISA с использованием калибровочных кривых CBLB502 и 33MX.

Результаты измерений ФК показаны на фиг. 15, на которой области А и В показывают количественный анализ CBLB502 и 33MX в образцах плазмы мышей. (НПКО - ниже предела количественного измерения). Таким образом, CBLB502-33MX имеет очень схожие ФК свойства со свойствами родительского CBLB502, т.е. выводится из кровотока приблизительно с той же скоростью. Соответственно, ФК признаки CBLB502 не нейтрализуются мутациями, которые были сконструированы для деиммунизации конструкции (например, в контексте CBLB502-33MX).

Те же самые 320 образцов плазмы использовали для получения цитокинового профиля для анализа ФД свойств 33MX по сравнению с CBLB502. Данные (фиг. 16) показывают, что CBLB502-33MX имеет очень схожий ФД профиль с родительским белком CBLB502. Соответственно, ФК признаки CBLB502 также не нейтрализуются мутациями, которые были сконструированы для деиммунизации конструкции (например, в контексте CBLB502-33MX).

Активацию сигнализации *in vivo* у родительского белка CBLB502 сравнивали с промежуточным вариантом CBLB502-S33 (минимизированным до деиммунизации) и CBLB502-33MX, конечным продуктом стадии I деиммунизации. Использовали анализ репортерного люциферазного гена под контролем NF-κB у мышей и вводили мышам один из следующих белков: CBLB502 (в дозах 0,1, 0,3, 1 и 3 мкг); CBLB502-S33 (в дозах 0,1, 0,3, 1 и 3 мкг) и CBLB502-33MX (в дозах 0,1, 0,3, 1 и 3 мкг). Спустя 3 ч после лечения мышей умерщвляли и собирали и замораживали при -80°C следующие органы: печень, мочевой пузырь, тонкий и толстый кишечник, сердце, селезенка, легкие, мозг и почка. Люциферазную активность в лизатах органов измеряли с использованием раствора для люциферазного анализа Bright-Glo Luciferase Assay (Promega) и выражали в виде специфической люциферазной активности (относительные световые единицы (ОСЕ)/мг белка ± стандартное квадратичное отклонение (СКО)). Результаты эксперимента, показанные на фиг. 17, демонстрируют, что способность к активации NF-κB деиммунизированного кандидата 33MX схожа с S33 и CBLB502 и в некоторых органах (например, толстом кишечнике и легких) даже превышает активность этих белков в некоторых органах.

Таким образом, среди других данный пример показывает, что деиммунизированный вариант CBLB502-33MX полностью сохранил или превысил по некоторым параметрам биологическую активность и фармакологические характеристики исходного белка CBLB502.

Пример 4. Эффективность *in vivo* 33MX на мышинной модели локального облучения головы и шеи.

Воздействие 33MX *in vivo* в условиях облучения оценивали при разнообразных дозах в сравнении с CBLB502. Лекарственное средство вводили спустя 1 ч после каждого облучения, предотвращая повреждение и ускоряя восстановление тканей после фракционированного облучения головы и шеи.

Оценивали шесть групп по 8 мышей, и группы перечислены в том порядке, в котором представлены данные на фиг. 18 (в сериях по 8 типов тканей, колонки обозначены слева направо для каждого типа ткани):

группа 1 (плацебо): 6 Гр×5 раз с интервалом в 24 ч (общая доза 30 Гр), вводили ФБР-Твин спустя 1 ч после каждого ИИ,

группа 6 (33MX, 0,03 мкг): 6 Гр×5 раз с интервалом в 24 ч (общая доза 30 Гр), вводили 0,03 мкг 33MX спустя 1 ч после каждого ИИ,

группа 5 (33MX, 0,1 мкг): 6 Гр×5 раз с интервалом в 24 ч (общая доза 30 Гр), вводили 0,1 мкг 33MX спустя 1 ч после каждого ИИ,

группа 4 (33MX, 0,3 мкг): 6 Гр×5 раз с интервалом в 24 ч (общая доза 30 Гр), вводили 0,3 мкг 33MX спустя 1 ч после каждого ИИ,

группа 3 (33MX, 1 мкг): 6 Гр×5 раз с интервалом в 24 ч (общая доза 30 Гр), вводили 1 мкг 33MX спустя 1 ч после каждого ИИ,

группа 2 (CBLB502, 0,1 мкг): 6 Гр×5 раз с интервалом в 24 ч (общая доза 30 Гр), вводили 0,1 мкг CBLB502 спустя 1 ч после каждого ИИ (было установлено в отдельном исследовании, что эта доза является особенно эффективной).

Всех мышей подвергали гистопатологическому анализу эпителия, языка, верхней части эзофагуса, слюнных желез и кожи мыши на 10 день после первого ИИ (0 день).

Результаты исследования представлены на фиг. 18. Шкалы оценки повреждения основаны на гистологической оценке тканевых срезов. Шкала оценки повреждения: 0 - для отсутствия повреждения и 4 - для самого тяжелого повреждения.

Эквиваленты

Поскольку настоящее изобретение было описано в связи с конкретными вариантами его реализации, следует понимать, что возможны его дополнительные модификации, и предполагается, что данное изобретение покрывает любые вариации, применения или адаптации настоящего изобретения, следующие в целом принципам настоящего изобретения и включающие подобные отклонения от настоящего описания, как те, что находятся в пределах известной или общепринятой практики в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение, и как те, что можно применить к существенным признакам, указанным выше, и как следует из объема прилагаемой формулы изобретения.

Специалистам в данной области техники очевидны или они способны установить посредством проведения рутинных экспериментов многочисленные эквиваленты конкретных вариантов реализации, описанных в данном документе. Подразумевается, что подобные эквиваленты охватываются объемом ниже следующей формулы изобретения.

Включение посредством ссылки

Все патенты и публикации, на которые в данном описании приведены ссылки, настоящим полностью включены посредством ссылки.

Публикации, обсуждаемые в настоящем документе, приведены исключительно для их описания до даты подачи заявки на данное изобретение. Никакую информацию в настоящем описании не следует толковать как признание того, что настоящее изобретение не имеет права датировать подобную публикацию более ранним числом в силу действия предыдущего изобретения.

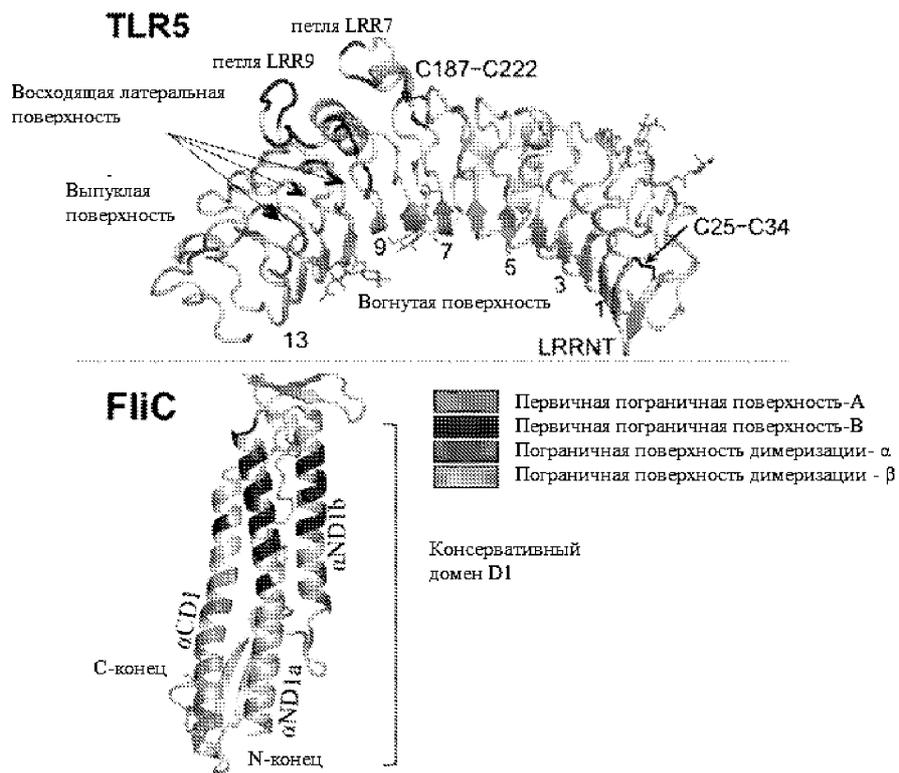
Все используемые в настоящем описании заголовки служат только для упорядочения структуры документа и никоим образом не подразумевают ограничения настоящего описания. Содержание любого отдельного раздела может быть одинаково применимо ко всем разделам.

Литература

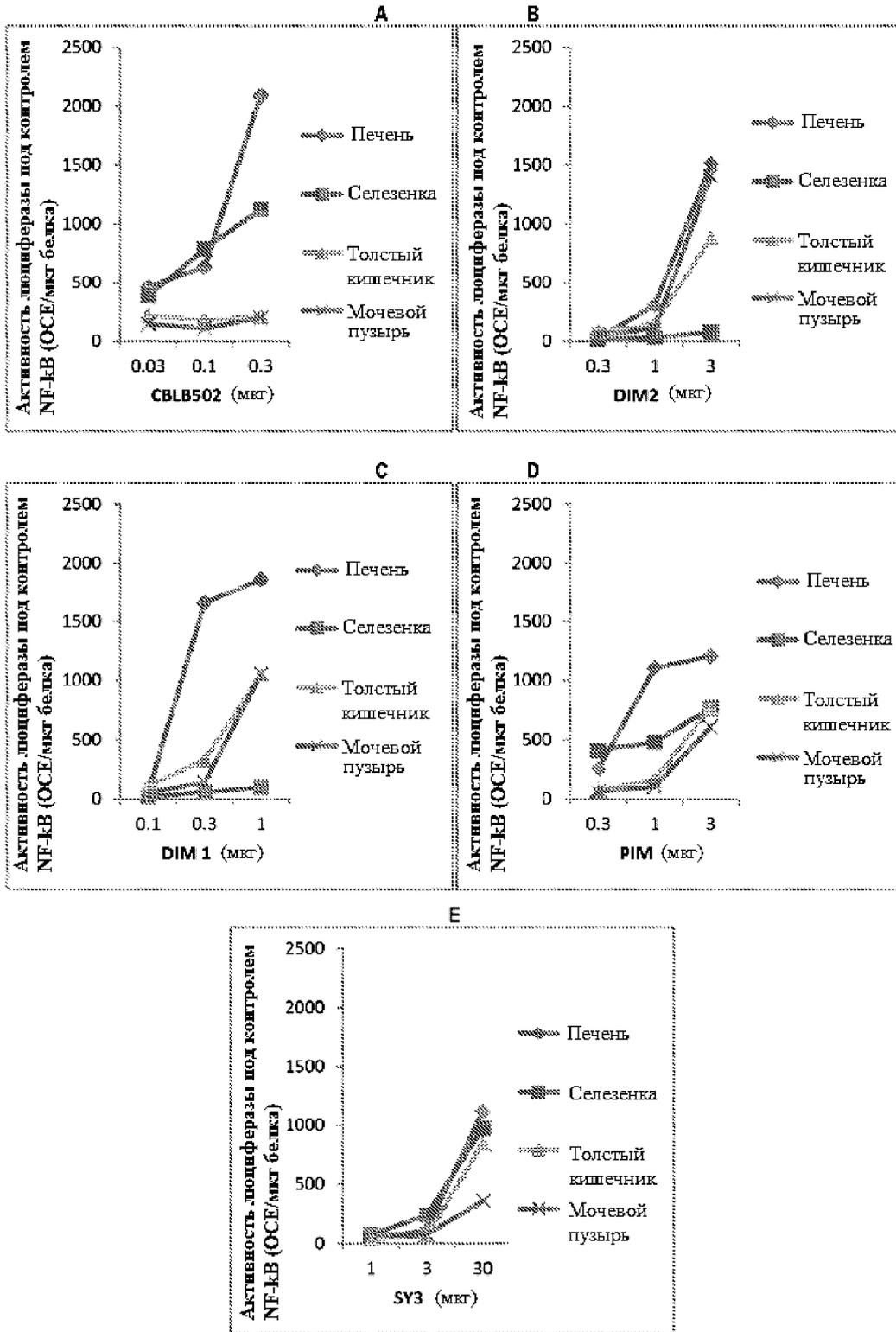
1. Yoon SI, Kurnasov O, Natarajan V, Hong M, Gudkov AV, Osterman AL, Wilson IA.,2012.Structural Basis of TLR5-Flagellin Recognition and Signaling.Science 335:859-864 (PMID:22344444)
2. Smith KD, Andersen-Nissen E, Hayashi F, Strobe K, Bergman MA, Barrett SL, Cookson BT, Aderem A.2003.Toll-like receptor 5 recognizes a conserved site on flagellin required for protofilament formation and bacterial motility.Nat Immunol.4:1247-53 (PMID:14625549)
3. Mizel, S.B.,A.P.West, R.R.Hantgan.2003.Identification of a sequence in human Toll-like receptor 5 required for the binding of Gram-negative flagellin.J.Biol.Chem.278:23624-23629 (PMID:12711596)
4. Murthy, K.G.,Deb, A.,Goonesekera, S.,Szabo, C.& Salzman, A.L.(2004) J.Biol.Chem.279:5667-5675 (PMID:14634022)
5. Andersen-Nissen E.,Smith K.D.,Strobe K.L.,Barrett S.L.,Cookson B.T.,Logan S.M.,Aderem A.(2005) Evasion of Toll-like receptor 5 by flagellated bacteria.Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 102:9247-9252 (PMID:15956202)
6. Andersen-Nissen E, Smith KD, Bonneau R, Strong RK, Aderem A.2007.A conserved surface on Toll-like receptor 5 recognizes bacterial flagellin.J Exp Med.204:393-403 (PMID:17283206)
7. Burdelya LG, Krivokrysenko VI, Tallant TC, Strom E, Gleiberman AS, Gupta D, Kurnasov OV, Fort FL, Osterman AL, Didonato JA, Feinstein E, Gudkov AV.,2008.An agonist of Toll-like receptor 5 has radioprotective activity in mouse and primate models.Science 320:226-230 (PMID:18403709).
8. Huleatt JW, Nakaar V, Desai P, Huang Y, Hewitt D, Jacobs A, Tang J, McDonald W, Song L, Evans RK et al.2008.Potent immunogenicity and efficacy of a universal influenza vaccine candidate comprising a recombinant fusion protein linking influenza M2e to the TRL5 ligand flagellin.Vaccine.26:201-214.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

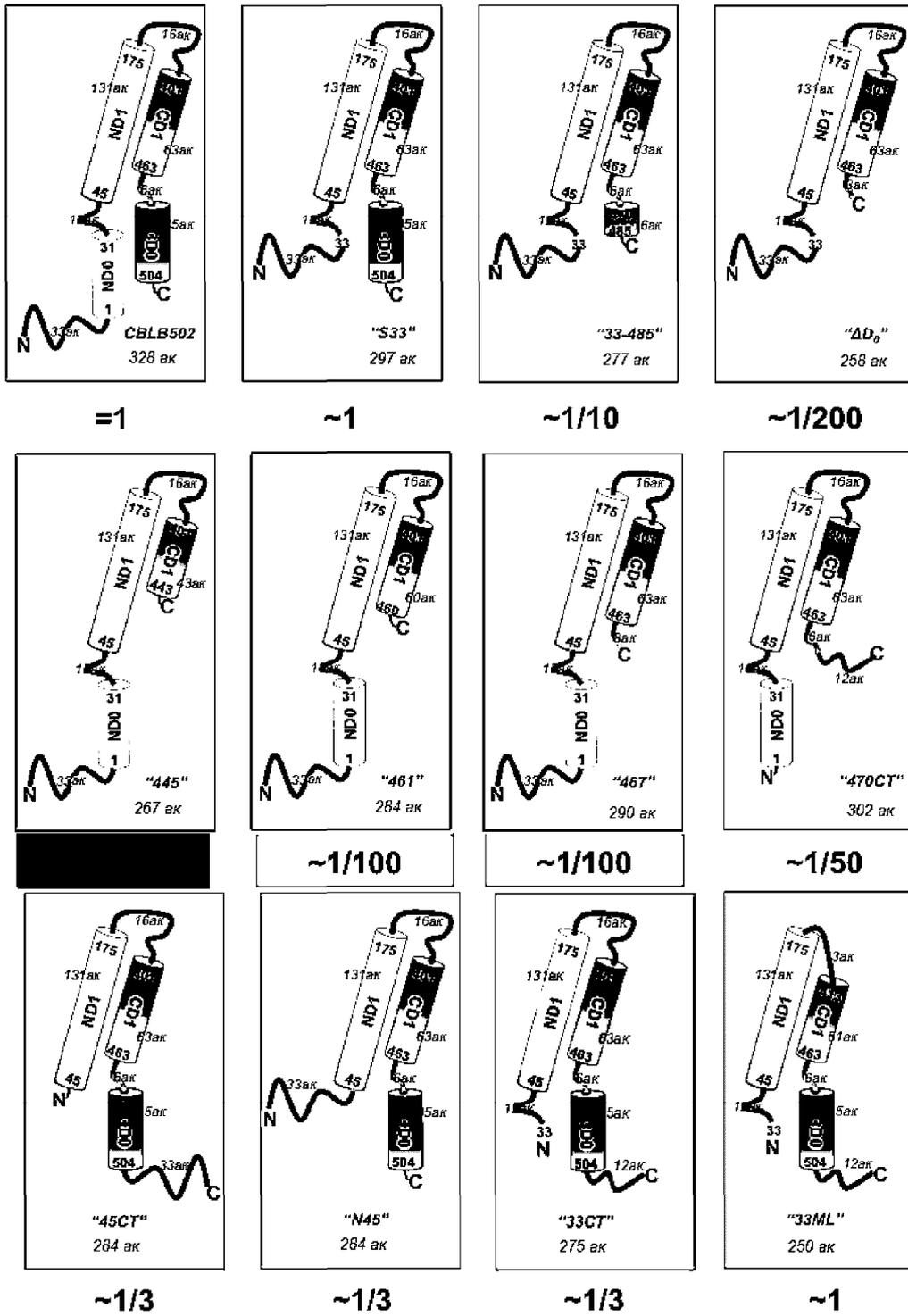
1. Полипептид, активирующий сигнальный путь TLR5 и содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 71 и SEQ ID NO: 150, или последовательность, по меньшей мере на 95% идентичную SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 71 или SEQ ID NO: 150.
2. Полипептид по п.1, который имеет сниженную антигенность и иммуногенность по сравнению с полипептидом, имеющим последовательность SEQ ID NO: 2.
3. Полипептид по п.1, который демонстрирует улучшенную фармакокинетику по сравнению с полипептидом, имеющим последовательность SEQ ID NO: 2.
4. Полипептид по п.1, который демонстрирует увеличенное время задержки *in vivo*.
5. Полипептид по п.1, который активирует сигнальный путь TLR5 на том же или сходном уровне, что и полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO: 2.
6. Полипептид по п.1, дополнительно содержащий N-концевую метку.
7. Полипептид по п.1, дополнительно содержащий C-концевую метку.
8. Полипептид по п.1, который индуцирует NF-κB-опосредованную экспрессию одного или более цитокинов, выбираемых из интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-12 (ИЛ-12), хемоаттрактанта кератиноцитов (КС), интерлейкина-10 (ИЛ-10), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 (MCP-1), фактора некроза опухолей альфа (ФНО-α; TNF-α), монокина, индуцируемого интерфероном гамма (MIG), и макрофагального белка воспаления 2 (MIP-2).
9. Фармацевтическая композиция, активирующая сигнальный путь TLR5, содержащая полипептид по любому из пп.1-8 и фармацевтически приемлемый носитель.
10. Способ стимулирования сигнального пути TLR5, включающий введение полипептида по любому из пп.1-8 субъекту, который нуждается в этом.
11. Способ по п.10, отличающийся тем, что субъект страдает от радиационно-индуцированного клеточного повреждения.
12. Способ по п.11, отличающийся тем, что субъект подвергался летальным дозам радиации.
13. Способ по п.11, отличающийся тем, что субъект проходит лучевую терапию.
14. Способ по п.11, отличающийся тем, что полипептид вводят перед воздействием радиации.
15. Способ по п.11, отличающийся тем, что полипептид вводят в ходе воздействия радиации.
16. Способ по п.11, отличающийся тем, что полипептид вводят после воздействия радиации.
17. Способ по п.10, в котором полипептид имеет сниженную антигенность и иммуногенность по сравнению с полипептидом, имеющим последовательность SEQ ID NO: 2.



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

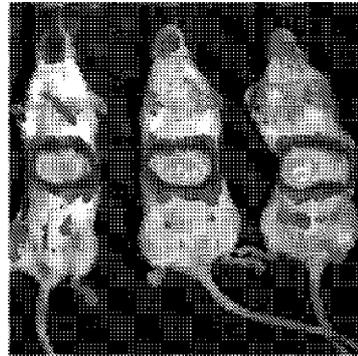
A

502 0.1 мкг



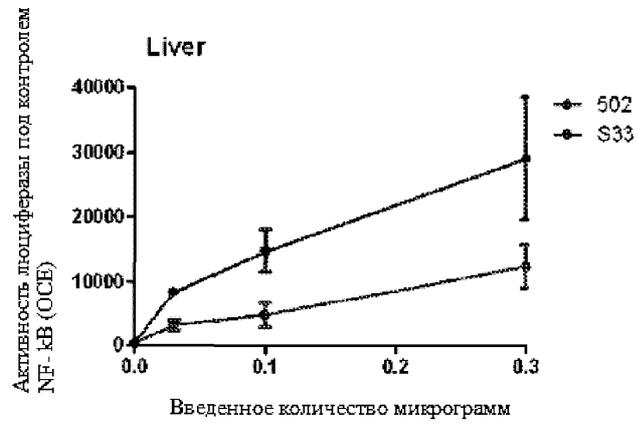
B

S33 0.1 мкг

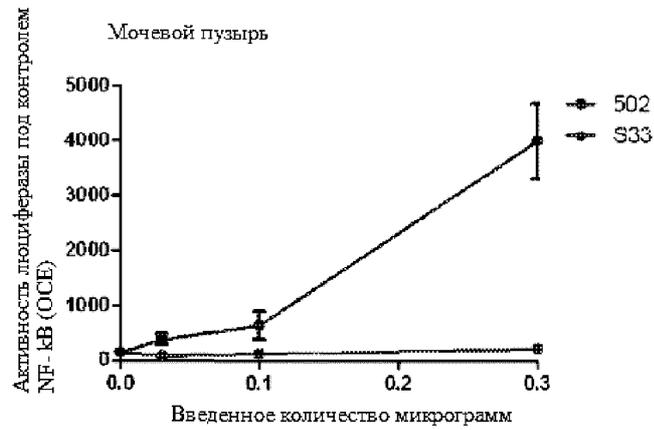


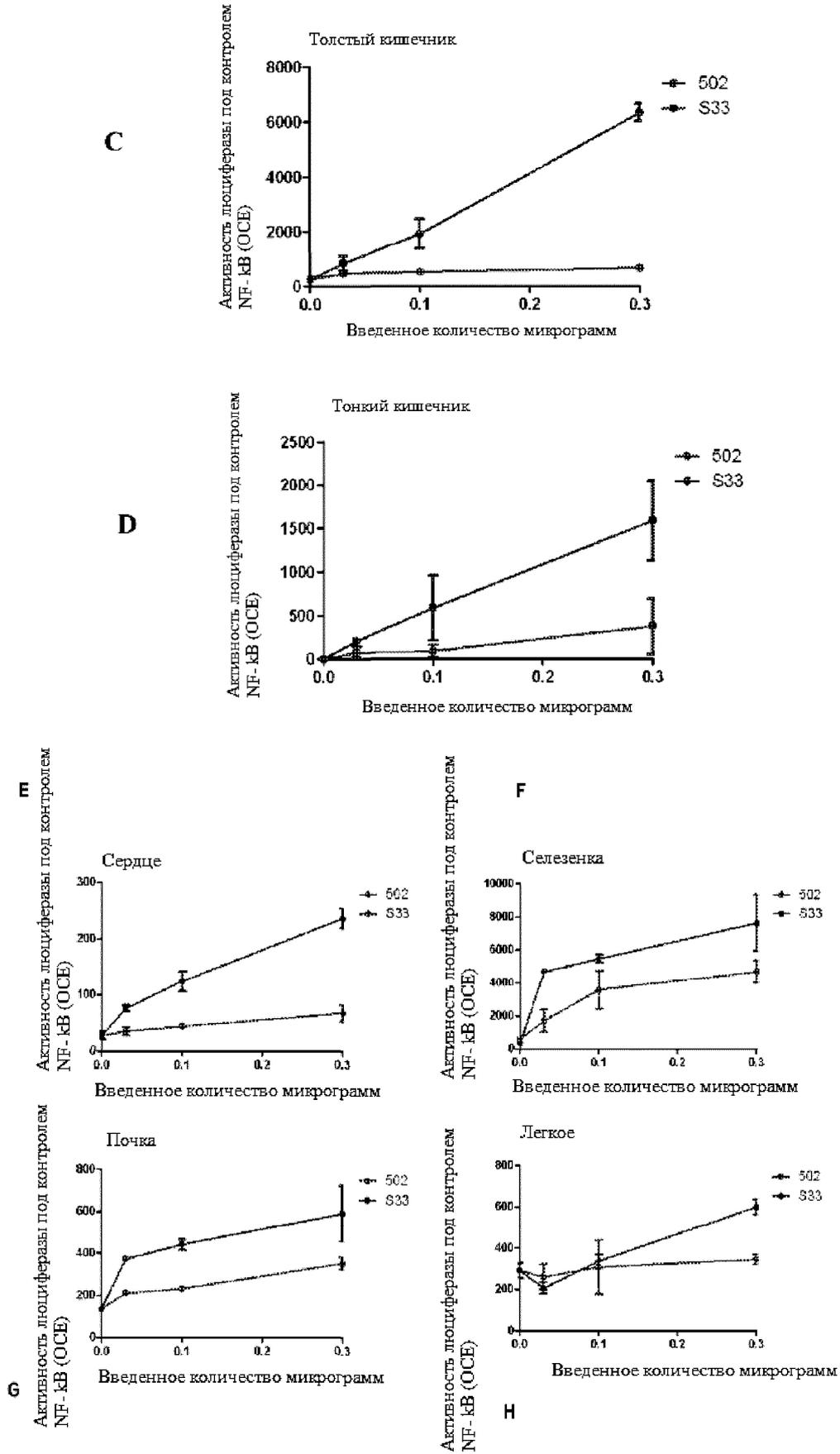
Фиг. 6

A



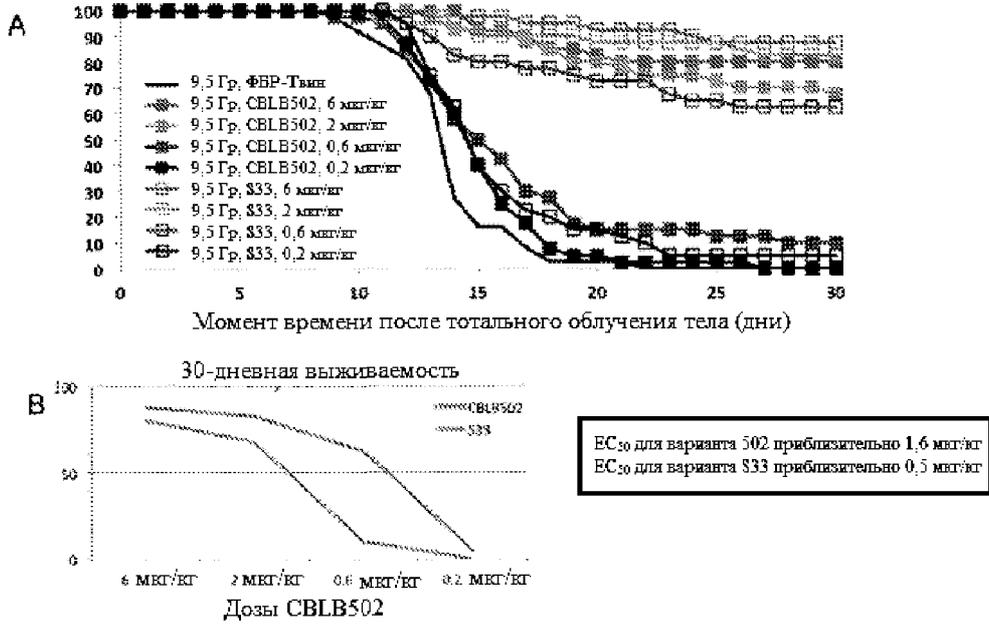
B



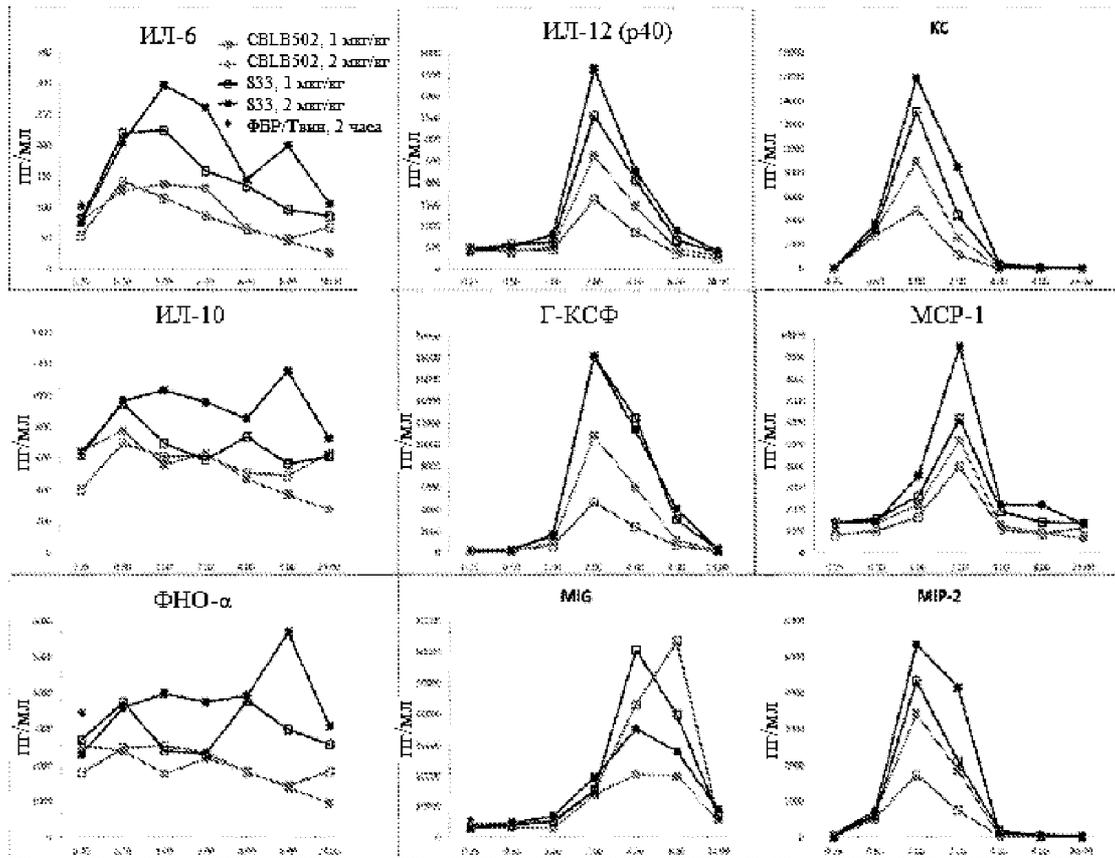


Фиг. 7

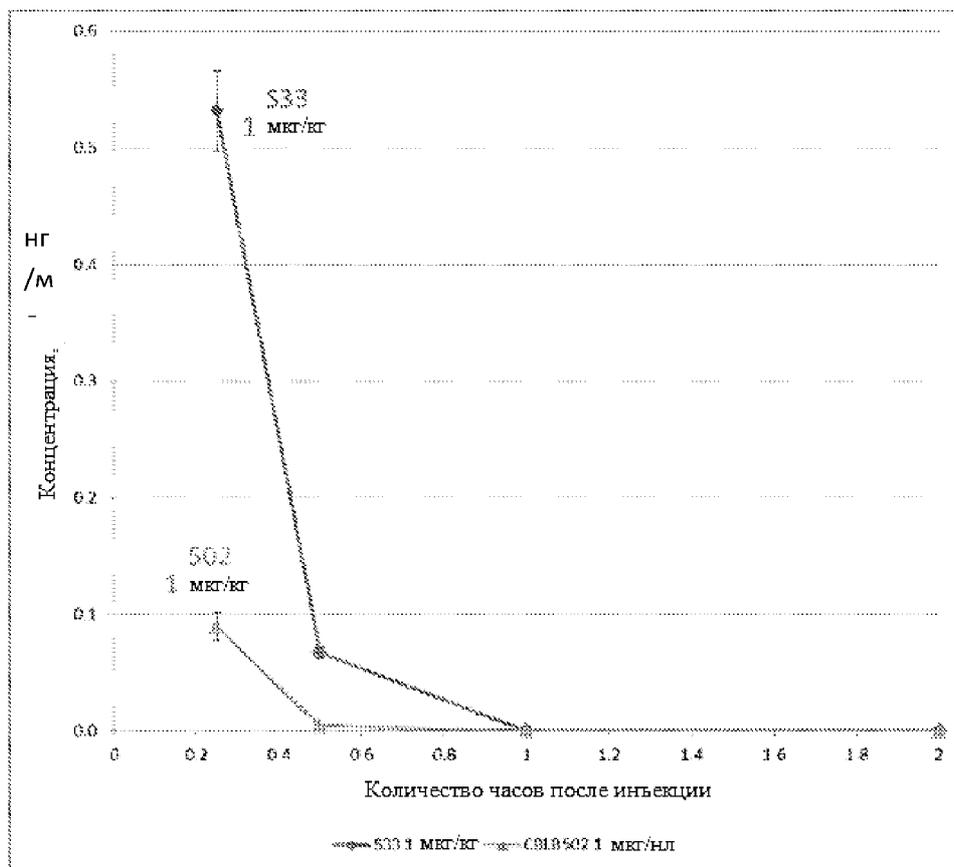
Выживаемость после 9,5 Гр (в/в за 30 мин до
тотального облучения тела)



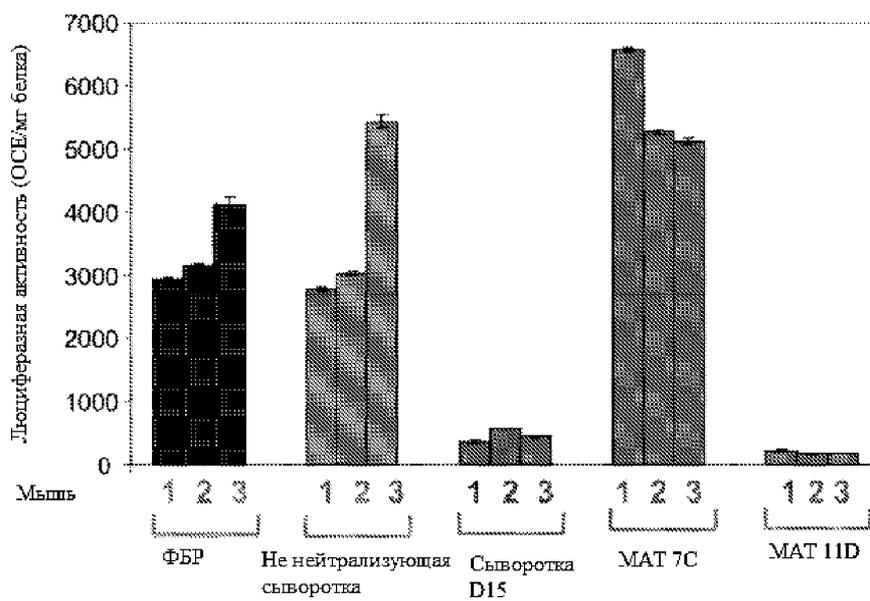
Фиг. 8



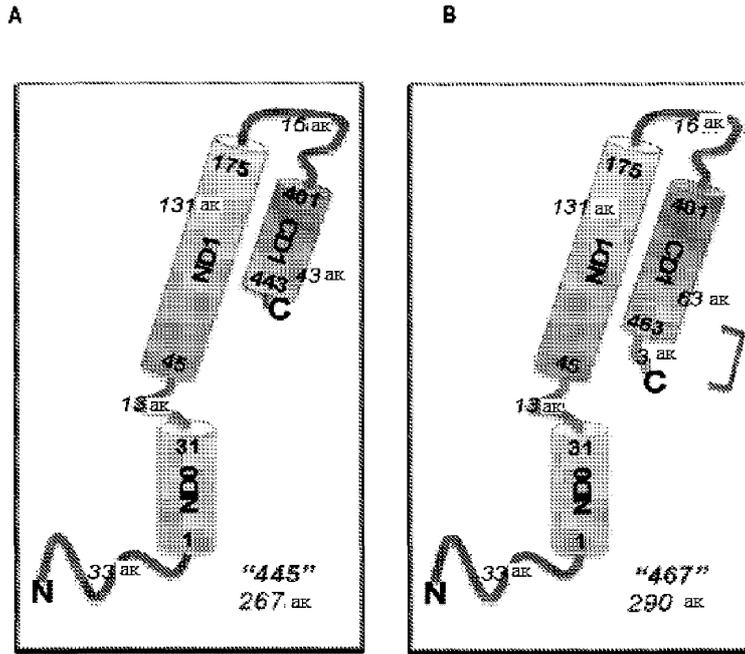
Фиг. 9



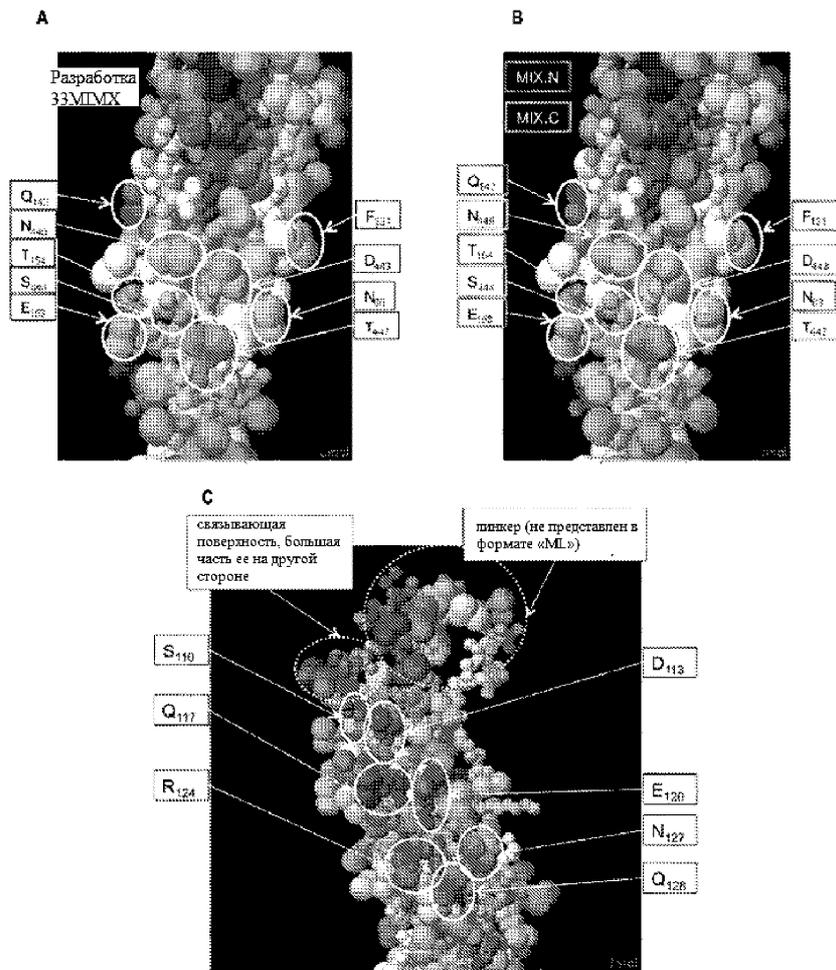
Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12



Фиг. 13

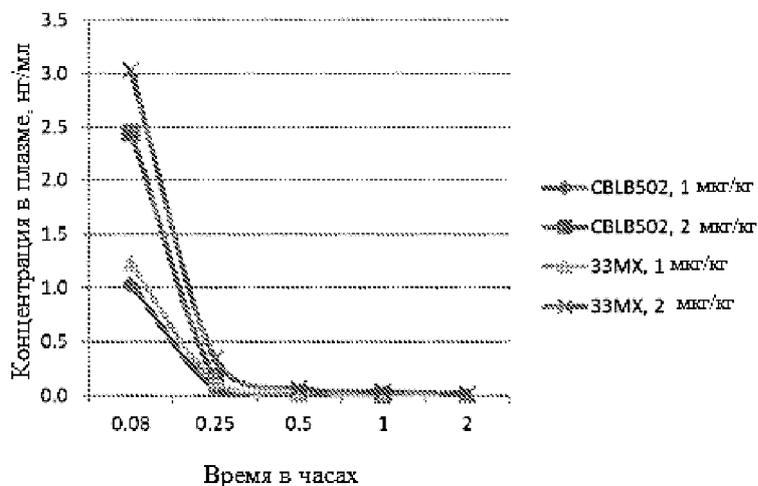
A

Время Часы	Среднее СВЛВ502, нг/мл		Время Часы	Среднее 33МХ, нг/мл	
	1 мкг/кг	2 мкг/кг		1 мкг/кг	2 мкг/кг
0.08	1.030	2.453	0.08	1.218	3.029
0.25	0.069	0.178	0.25	0.139	0.343
0.5	0.015	0.021	0.5	0.034	0.064
1	НПКО	0.005	1	0.020	0.036
2	НПКО	НПКО	2	0.008	0.015
4	НПКО	НПКО	4	НПКО	НПКО
8	НПКО	НПКО	8	НПКО	НПКО
24	НПКО	НПКО	24	НПКО	НПКО

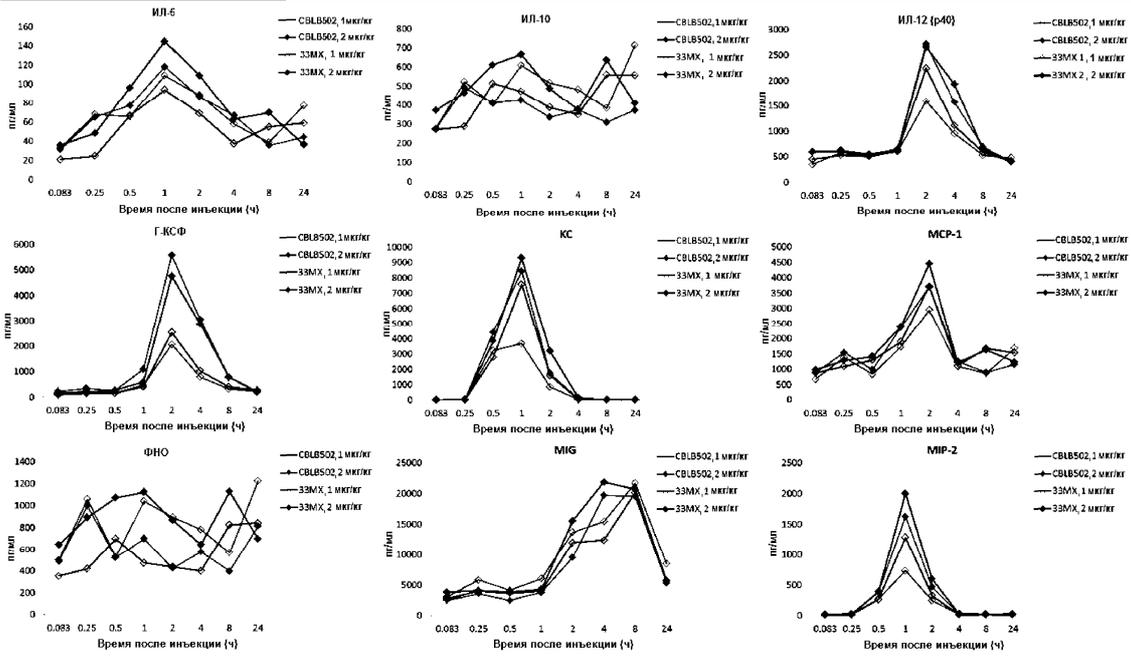
Время Часы	Среднее отклонение СВЛВ502, нг/мл		Время Часы	Среднее отклонение 33МХ, нг/мл	
	1 мкг/кг	2 мкг/кг		1 мкг/кг	2 мкг/кг
0.08	0.823	1.051	0.08	0.224	0.789
0.25	0.025	0.037	0.25	0.029	0.153
0.5	0.010	0.004	0.5	0.006	0.011
1	Нес. данных	0.011	1	0.010	0.008
2	Нес. данных	Нес. данных	2	0.001	0.010
4	Нес. данных	Нес. данных	4	Нес. данных	Нес. данных
8	Нес. данных	Нес. данных	8	Нес. данных	Нес. данных
24	Нес. данных	Нес. данных	24	Нес. данных	Нес. данных

B

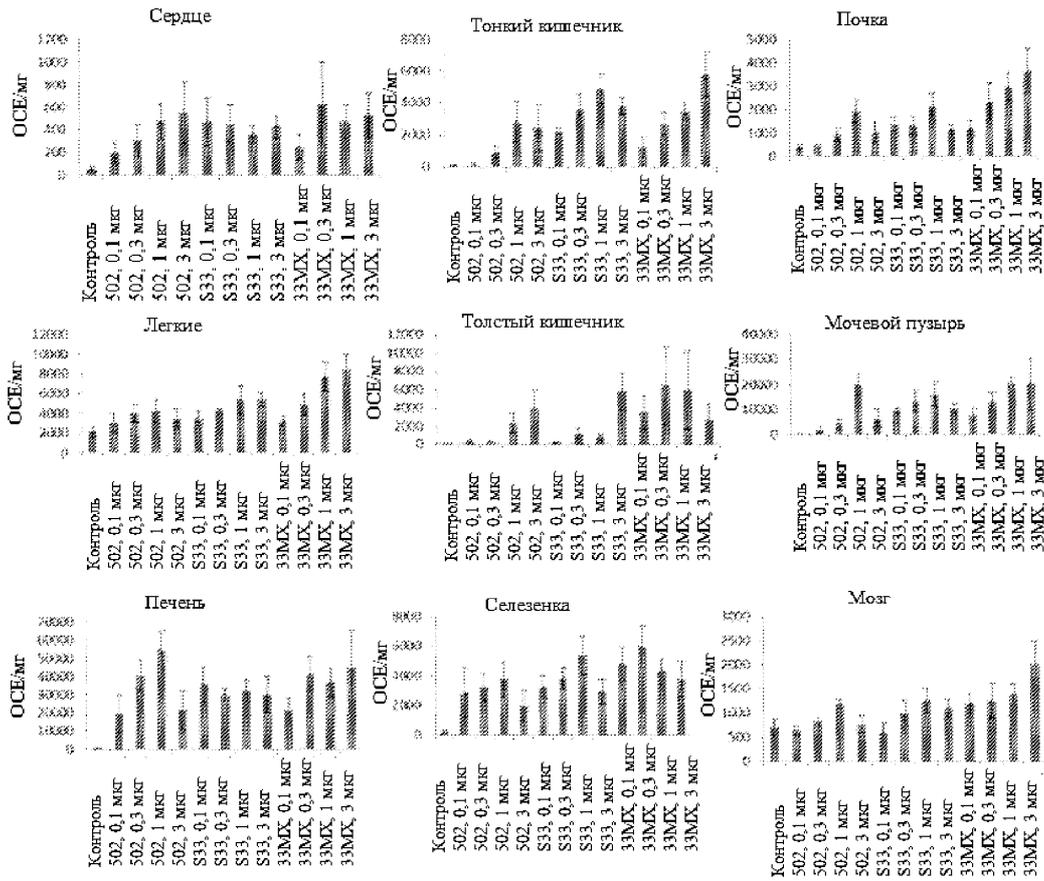
СВЛВ502 и 33МХ в плазме крови мыши



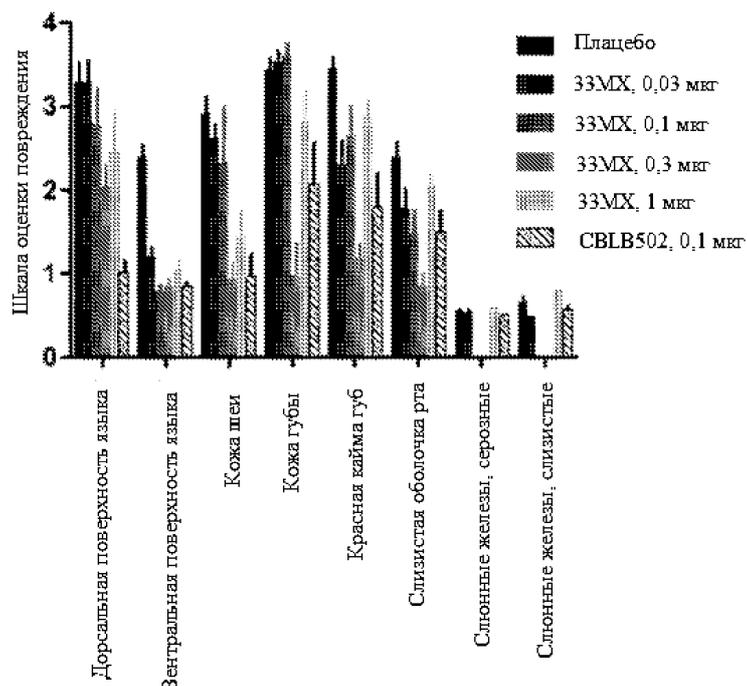
Фиг. 15



Фиг. 16



Фиг. 17



Фиг. 18

