

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **036055**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента

**2020.09.21**

(21) Номер заявки

**201590910**

(22) Дата подачи заявки

**2011.04.13**(51) Int. Cl. **C07K 14/78** (2006.01)**A61K 38/39** (2006.01)**A61P 9/10** (2006.01)**A61P 3/06** (2006.01)

---

**(54) ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛИПЕПТИДА, СВЯЗЫВАЮЩЕГО PCSK9, ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ  
АТЕРОСКЛЕРОЗА ИЛИ ГИПЕРХОЛИСТЕРИНЕМИИ**


---

(31) **61/323,562; 61/330,731**(32) **2010.04.13; 2010.05.03**(33) **US**(43) **2016.05.31**(62) **201270761; 2011.04.13**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**БРИСТОЛ-МАЙЕРС СКВИББ  
КОМПАНИ (US)**

(72) Изобретатель:

**Кампхаусен Рей, Клоад Шерон Т.,  
Дэвис Джонатан Х., Денхез  
Фабиеанне М., Саесед-Коте Амна,  
Липовсек Даса, Лоу Чи Менг, Митчел  
Трейси С., Ракестроу Джинджер С.,  
Руссо Кэти А., Ло Чинг-Хсиунг****Фредерик, Миао Боуман, Паркер  
Рекс А., Ситкофф Дори Ф. (US)**

(74) Представитель:

**Льву Т.Н., Угрюмов В.М., Дементьев  
В.Н., Глухарёва А.О., Карпенко О.Ю.,  
Клюкин В.А., Строкова О.В., Захарова  
Н.С., Христофоров А.А. (RU)**(56) **US-A1-20080057590****WO-A2-2005056764****LOPEZ D. "Inhibition of PCSK9 as a novel  
strategy for the treatment of hypercholesterolemia",  
Drug News Perspect, 2008, 21(6):pp. 323-330  
(реферат) [он-лайн] [найдено 25.01.2016], Найдено  
из PubMed, PMID:18836590****WO-A2-2009142773**

(57) Изобретение относится к применению полипептида, связывающего PCSK9 (пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9), для лечения атеросклероза или гиперхолестеринемии, где полипептид включает десятый домен типа III фибронектина человека (<sup>10</sup>F<sub>n</sub>3), в котором петля FG содержит последовательность формулы E<sub>X</sub><sub>4</sub>X<sub>1</sub>X<sub>5</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>6</sub>GYX<sub>4</sub>HR, где X<sub>1</sub> представляет собой любую аминокислоту, X<sub>4</sub> представляет собой Y или F, X<sub>5</sub> представляет собой Y, F или W и X<sub>6</sub> представляет собой S или A. В частном случае, указанный полипептид дополнительно включает петлю BC, содержащую последовательность формулы (X<sub>1</sub>)<sub>Z</sub>X<sub>2</sub>G, в которой X<sub>1</sub> представляет собой любую аминокислоту, Z представляет собой число от 6 до 9 и X<sub>2</sub> представляет собой Y или H. В частности, указанный полипептид также дополнительно включает петлю DE, содержащую последовательность формулы X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>3</sub>, в которой X<sub>1</sub> представляет собой любую аминокислоту и X<sub>3</sub> представляет собой G или S. Также указанный полипептид, в частном случае, дополнительно содержит одну или более фармакокинетических групп, выбранных из полиэтиленгликоля, сиаловой кислоты, Fc-фрагмента, части Fc-фрагмента, трансферрина, сывороточного альбумина, связывающего сывороточный альбумин белка и связывающего сывороточные иммуноглобулины белка.

**B1****036055****036055 B1**

### Область техники

Изобретение относится к связывающим белок-предшественник конвертазы субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9) белкам, содержащим структурный домен фибронектина. Также изобретение относится к применению данных оригинальных белков в терапевтических приложениях для лечения атеросклероза, гиперхолестеринемии и других заболеваний, связанных с повышенным уровнем холестерина. Также изобретение относится к клеткам, содержащим такие белки, полинуклеотидам, кодирующим такие белки, или их фрагментам и к векторам, содержащим полинуклеотиды, кодирующие данные оригинальные белки.

### Введение

Атеросклероз - заболевание артерий, ответственное за развитие ишемической болезни сердца (ИБС), которая является причиной большинства случаев смерти в промышленно развитых странах (Lusis (2000)). В настоящее время некоторые факторы риска развития ИБС хорошо известны: дислипидемии, артериальная гипертензия, сахарный диабет, курение, плохое питание, отсутствие физической нагрузки и стресс. Наиболее клинически значимые и распространенные дислипидемии характеризуются повышением содержания липопротеидов низкой и очень низкой плотности (ЛПНП и ЛПОНП) совместно с гиперхолестеринемией при отсутствии или наличии гипертриглицеридемии (Fredrickson et al. (1967)). Отдельное повышение уровня холестерина в составе ЛПНП является одним из наиболее распространенных факторов риска развития ИБС. Белок PCSK9 (также известный как HCHOLA3, NARC-1, или FN3) является протеазой и подсемейства протеиназы К семейства секреторных субтилаз (Naureckiene et al., Arch. Biochem. Biophys., 420:55-57 (2003)). Показано, что PCSK9 является ключевым регулятором гомеостаза уровня холестерина и уровня циркулирующих липопротеидов низкой плотности. Циркулирующий белок PCSK9 контролирует метаболизм ЛПНП, непосредственно связываясь с рецептором ЛПНП и обеспечивая его деградацию в гепатоцитах. PCSK9-опосредованное снижение представленности и активности рецептора ЛПНП приводит к снижению клиренса ЛПНП из кровотока и повышению уровня ЛПНП. Известно, что некоторые мутантные формы PCSK9, в том числе S127R, N157K, F216L, R218S, и D374Y, с S127R, F216L, и D374Y связаны с аутосомно-доминантной гиперхолестеринемией (АДГ). Считается, что диккий тип PCSK9 увеличивает скорость обмена рецепторов ЛПНП и обуславливает более низкий клиренс ЛПНП (Maxwell et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 102(6):2069-2074 (2005), тогда как мутации, приводящие к потере функциональности PCSK9 приводят к повышению уровня рецептора липопротеидов низкой плотности (РЛПНП), увеличению клиренса циркулирующих ЛПНП и соответствующему снижению уровня холестерина в плазме (Rashid et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 102(15):5374-5379 (2005)). Таким образом, PCSK9 является потенциальной мишенью для разработки средств лечения атеросклероза, гиперхолестеринемии и других заболеваний, связанных с повышенным уровнем холестерина.

Основанные на последовательности фибронектина структуры представляют собой семейство белков, способных изменять свою структуру таким образом, чтобы связать любое целевое вещество. Белки такого типа, структуры которых обычно образованы на основе фибронектинового домена III типа (Fn3) или Fn3-подобного домена, имеют схожие функциональные свойства со свойствами природных или рекомбинантных антител (поликлональных, моноклональных или одноцепочечных), а также обладают структурными преимуществами. В частности, структура таких миметиков антител создана оптимальной для пространственной укладки, стабильности и растворимости даже в условиях, которые обычно приводят к потере структуры и функции антител. Примером структурных белков на основе фибронектина являются Аднектины (Adnexus, Bristol-Myers Squibb R & D Company).

Фибронектиновые домены III типа (Fn3) содержат следующие участки (по порядку от N-конца к C-концу): бета- или бета-подобный участок А, петля АВ, бета- или бета-подобный участок В, бета- или бета-подобный участок С, петля CD, бета- или бета-подобный участок D, петля DE, бета- или бета-подобный участок E; петля EF, бета- или бета-подобный участок F; петля FG и бета- или бета-подобный участок G. Любая или все петли АВ, ВС, CD, DE, EF и FG могут принимать участие в связывании целевой молекулы. Петли ВС, DE и FG являются структурными и функциональными аналогами областей определяющих комплиментарность иммуноглобулинов (CDR-участки). В патентной заявке США № 7115396 описываются белки, содержащие домены Fn3, в которых изменения в ВС, DE и FG петлях приводят к высокому сродству при связывании ФНО $\alpha$ . В патентной заявке США № 2007/0148126 описываются белки, содержащие домены Fn3, в которых изменения в ВС, DE и FG петлях приводят к высокому сродству при связывании VEGFR2.

Получение оптимизированных структурных белков, содержащих домены фибронектинового типа, связывающих PCSK9, для терапевтического применения таких белков при лечении атеросклероза, гиперхолестеринемии и других заболеваний, связанных с повышенным уровнем холестерина.

### Сущность изобретения

В изобретении заявлено применение полипептида, связывающего PCSK9 (пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9), для лечения атеросклероза или гиперхолестеринемии, где полипептид включает десятый домен типа III фибронектина человека (<sup>10</sup>Fn3), в котором петля FG содержит последовательность формулы EX<sub>4</sub>X<sub>1</sub>X<sub>5</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>6</sub>GYX<sub>4</sub>HR (SEQ ID NO: 451), где X<sub>1</sub> представляет собой любую аминокислоту, X<sub>4</sub> представляет собой Y или F, X<sub>5</sub> представляет собой Y, F или W и X<sub>6</sub> представляет собой S

или А.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения указанный полипептид связывает PCSK9 с  $K_D$  менее чем 500 нМ.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения петля FG содержит фрагмент любой из последовательностей SEQ ID NO: 28-38 и 142-172, который выделен затемнением в табл. 3.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения петля FG содержит любую из последовательностей SEQ ID NO: 28-38 и 142-172.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения полипептид дополнительно включает петлю BC, содержащую последовательность формулы  $(X_1)_Z X_2 G$  (SEQ ID NO: 449), в которой  $X_1$  представляет собой любую аминокислоту, Z представляет собой число от 6 до 9 и  $X_2$  представляет собой Y или H.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения петля BC содержит фрагмент любой из последовательностей SEQ ID NO: 2-17, 107-135 и 301-303, который выделен затемнением в табл. 3.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения петля BC содержит любую из последовательностей SEQ ID NO: 2-17, 107-135 и 301-303.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения полипептид дополнительно включает петлю DE, содержащую последовательность формулы  $X_1 X_1 X_1 X_3$  (SEQ ID NO: 450), в которой  $X_1$  представляет собой любую аминокислоту и  $X_3$  представляет собой G или S.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения петля DE содержит фрагмент любой из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141, который выделен затемнением в табл. 3.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения петля DE содержит любую из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения последовательность петли BC, DE и FG по меньшей мере на 80% идентичны любым из последовательностей SEQ ID NO: 2-38, 107-172 и 301-303.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения последовательности петель BC, DE и FG по меньшей мере на 80% идентичны последовательностям SEQ ID NO: 14, 25 и 37 соответственно.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения полипептид содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную любой из последовательностей SEQ ID NO: 39-76, 173-290 и 304-309.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения полипептид содержит аминокислотную последовательность  $^{10}Fn3$  домена, представляющую собой фрагмент 3-96 последовательности SEQ ID NO: 69.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения петля BC содержит последовательность SEQ ID NO: 14, петля DE содержит последовательность SEQ ID NO: 25 и петля FG содержит последовательность SEQ ID NO: 37.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения полипептид содержит SEQ ID NO: 82.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения петля BC содержит последовательность SEQ ID NO: 112, петля DE содержит последовательность SEQ ID NO: 138 и петля FG содержит последовательность SEQ ID NO: 156.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения полипептид содержит SEQ ID NO: 209.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения полипептид дополнительно содержит одну или более фармакокинетических групп, выбранных из полиэтиленгликоля, сиаловой кислоты, Fc-фрагмента, части Fc-фрагмента, трансферрина, сывороточного альбумина, связывающего сывороточный альбумин белка и связывающего сывороточные иммуноглобулины белка.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения белок, связывающий сывороточный альбумин, содержит десятый домен типа III фибронектина человека ( $^{10}Fn3$ ).

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения домен  $^{10}Fn3$  связывает HSA.

Согласно одному из вариантов выполнения заявленного изобретения фармакокинетической группой является полиэтиленгликоль.

#### Краткое описание чертежей

На фиг. 1 приведено выравнивание примера аминокислотной последовательности анти-PCSK9 Аднектина. Аминокислотные последовательности петель BC, DE и FG выделены подчеркиванием, курсивом и подчеркиванием или жирным шрифтом и подчеркиванием соответственно;

на фиг. 2 изображена схема анализа "PCSK9:гомологичный домен предшественника эпидермального фактора роста (домен EGFA)" на основе флуоресцентного резонансного переноса энергии (FRET), который был применен для измерения способности PCSK9 Аднектинов ингибировать взаимодействие PCSK9:РЛПНП, как описано в примере 2;

на фиг. 3 - кривая, полученная при FRET-анализе, при измерении ингибирования взаимодействия человеческого PCSK9:EGFA клонами 1459D05, 1784F03, 1813E02, 1922G04 и 1923B02 (панель А) и клонами 1459D05, 2012A04, 2011H05 и 2013E01 (панель В) PCSK9 Аднектина, как описано в примере 2;

на фиг. 4 - кривая, полученная при FRET-анализе, при измерении ингибирования взаимодействия человеческого PCSK9:АТI000972 клонами 1459D05, 1784F03, 1813E02, 1922G04 и 1923B02 (панель А) и клонами 2012A04, 2011H05 и 2013E01 (панель В) PCSK9 Аднектина, как описано в примере 2;

на фиг. 5 показана активность клонов 1459D05, 1784F03, 1813E02, 1922G04 и 1923B02 (панель А) и клонов 2012A04, 2011H05 и 2013E01 (панель В) PCSK9 Аднектина при прямом FRET-анализе связывания PCSK9 человека, как это описано в примере 2;

на фиг. 6 приведено ингибирование активности PCSK9 в клетках линии НерG2, измеренное с помощью метода поглощения DiI-ЛПНП клетками, как это описано в примере 2;

на фиг. 7 показано ингибирование индуцированного PCSK9 снижения количества РЛПНП на поверхности клеток линии НерG2 с помощью PCSK9 Аднектина, экспрессируемого клонами 1459D05, 1784F03, 2012A04 и 2011H05 (панель А) и 2011H05, 2012A04 и 2013E01 (панель В), как это описано в примере 2. Показатель  $EC_{50}$  (нМ) для клонов 1784F03, 2012A04, 2011H05 и 2013E01 составляет 15.98, 7.78, 8.85 и 12.41 соответственно. Процентный уровень ингибирования PCSK9 при концентрации 75 нМ PCSK9 Аднектина клонов 1459D05, 1784F03, 2012A04, 2011H05 и 2013E01 составляет 66.8, 150.2, 190.1, 177.4 и 152.2 соответственно;

на фиг. 8 демонстрируется эффект введения PCSK9 Аднектина АТI000959 (100 мг/кг) на уровень холестерина в плазме (панель А) и на уровень несвязанного hPCSK9 в плазме (панель В) мышам трансгенной линии, экспрессирующим на высоком уровне hPCSK9, как это описано в примере 3. Вариант АТI000959 содержит разветвленный ПЭГ (NOF) массой 40 кДа;

на фиг. 9 демонстрируется эффект введения PCSK9 Аднектина АТI001114 (10 или 60 мг/кг) на уровень холестерина в плазме (панель А) и на уровень несвязанного hPCSK9 в плазме (панель В) мышам трансгенной линии, экспрессирующим на высоком уровне hPCSK9, как это описано в примере 3;

на фиг. 10 - эффект введения PCSK9 Аднектинов АТI000959 (панель А) или АТI001114 (панель В), введенных в количестве 5 мг/кг внутривенно (i.p.), в однократной дозе, на уровень свободного hPCSK9 в сыворотке мышц трансгенной линии с нормальным уровнем экспрессии hPCSK9 (среднее значение  $\pm$  SD), как это описано в примере 3;

на фиг. 11 показана дозозависимость эффекта PCSK9 Аднектина АТI001114 на уровень свободного hPCSK9 у мышей трансгенной по hPCSK9 линии с нормальным уровнем экспрессии, как это описано в примере 3;

на фиг. 12 - эффект однократного введения PCSK9 Аднектина АТI001114 (5 мг/кг i.v.) на снижение количества ЛПНП-С у яванских макак (среднее  $\pm$  SEM, n=3), как это описано в примере 3;

фиг. 13 - определение аффинности и стехиометрических показателей связывания PCSK9 Аднектина с hPCSK9, определенные с помощью ИТС. PCSK9 Аднектины связываются с hPCSK9 в соотношении 1:1. В левой части фигуры приведены данные для PCSK9 Аднектина АТI001081, в правой части для PCSK9 Аднектина АТI001174;

фиг. 14 - ингибирование сигнала PCSK9:EGFA (левая панель) и PCSK9:АТI-972 (правая панель) PCSK9 Аднектинами при анализе с помощью FRET;

фиг. 15 - ингибирование индуцированного PCSK9 снижения количества РЛПНП на поверхности клеток линии НерG2 под влиянием анти-PCSK9 Аднектинов;

фиг. 16 - ингибирование проникновения PCSK9-AF647 в клетки линии НерG2;

фиг. 17 - уровень свободного hPCSK9 в плазме у трансгенных мышей при введении PRD460 (вводимого i.p.);

фиг. 18 - эффект введения PRD460 (15 мг/кг i.v.) на уровень ЛПНП-С и свободного PCSK9 у яванских макак (среднее  $\pm$  SEM, n=3);

фиг. 19 - эффект АТI-1081 (также обозначенного АТI001081) на уровень свободного PCSK9 у яванских макак;

фиг. 20 - эффект АТI-1081 на уровень ЛПНП-С у яванских макак;

фиг. 21 - эффект АТI-1081 в PBS при введении трансгенным мышам. На данной фигуре приведены данные об уровне свободного PCSK9 в плазме у трансгенных мышей;

фиг. 22 - эффект подкожного введения АТI-1081 в полиэтиленгликоле трансгенным мышам. На данной фигуре приведены данные об уровне свободного hPCSK9 у трансгенных мышей;

фиг. 23 - время полужизни HSA у мышей (in vivo). HSA вводился бестимусным мышам в дозах 20 мг/кг (левая панель) и 50 мг/кг (правая панель);

фиг. 24 - определение времени полужизни SABA1.1 (панель А), SABA2.1 (панель В), SABA3.1 (панель С) и SABA4.1 (панель D) при введении мышам;

фиг. 25 - график, демонстрирующий увеличение времени полужизни SABA1-4 при одновременном введении с HSA мышам;

фиг. 26 - определение времени полужизни в плазме SABA1.1 (панель А) и SABA5.1 (панель В) у яванского макака;

фиг. 27 - анализ связывания SABA1.2 с альбуминами человека, мыши и крысы с помощью прямого ИФА. Определение стехиометрических показателей связывания SABA1.1 и HSA. Стехиометрия данного связывания - 1:1;

фиг. 29 - анализ связывания SABA1.2 с фрагментами рекомбинантного домена HSA с помощью системы BIACORE®;

фиг. 30 - профиль фармакокинетики SABA1.2 у яванских макаков при введении в дозировках 1 мг/кг и 10 мг/кг;

фиг. 31 - профиль фармакокинетики SABA1.2 у обезьян при введении внутривенно или подкожно в дозировке 1 мг/кг.

### Подробное описание изобретения

Определения.

Под термином "полипептид" подразумевается любая последовательность из двух или более аминокислот, независимо от длины, посттрансляционных модификаций или функции. Термины "полипептид", "пептид" и "белок" используются в данном документе равноправно. Полипептиды могут включать как природные, так и не природные аминокислоты, такие как описанные в заявке U.S. Patent № 6559126 и включенные в данное изобретение посредством ссылки. Полипептиды также могут быть модифицированы с помощью любого из разнообразных стандартных химических способов (например, аминокислота может быть модифицирована с помощью защитной группы, С-концевой карбоксил может быть трансформирован в амидную группу, N-концевой аминокислотный остаток может быть модифицирован с помощью различных групп для повышения липофильности, также полипептид может быть химически гликозилирован или модифицирован другим способом для повышения стабильности и времени полужизни *in vivo*). Модификации полипептидов могут включать присоединение других структур, например циклических соединений или других молекул к полипептиду. Также полипептиды могут содержать один или более аминокислотных остатков с измененной конфигурацией (например, R, или S, или L, или D). Пептиды, описанные в настоящем изобретении, представляют собой модифицированные производные десятого домена III типа фибронектина, измененные таким образом, чтобы специфически связывать PCSK9. Данные пептиды здесь обозначены следующими названиями: "анти-PCSK9 Аднектин" или "PCSK9 Аднектин".

Термин "ПК" является акронимом термина "фармакокинетический" и обозначает различные свойства химического вещества, включая, например, абсорбцию, распределение, обмен и выведение субъектом. Термины "ПК модулирующий белок" или "ПК группа" обозначают любой белок, пептид или агент, которые влияют на фармакокинетические свойства биологически активной молекулы, когда они слиты вместе или вводятся в организм совместно с биологически активной молекулой. Примерами ПК модулирующих белков или ПК-групп являются ПЭГ, вещества, связывающие сывороточный альбумин человека (HSA) (как описано в патентных заявках U.S. Publication № 2005/0287153 и 2007/0003549, PCT Publication № WO 2009/083804 и WO 2009/133208, и молекулы SABA, как описано в данной заявке), сывороточный альбумин человека, Fc-фрагмент или его части и варианты, и сахара (например, сиаловые кислоты).

"Процент (%) идентичности аминокислотной последовательности" в заявке определяется как процент аминокислотных остатков кандидатной последовательности, которые идентичны аминокислотным остаткам выбранной последовательности, после выравнивания последовательностей и введения, при необходимости, пробелов, для достижения максимального процента идентичности последовательности, и рассмотрения любых консервативных замен как отличающейся части сравниваемых последовательностей. Выравнивание для определения процента идентичности аминокислотной последовательности может быть построено различными способами, известными специалистам в соответствующей области, например, с помощью общедоступных компьютерных программ, таких как BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 или Megalign (DNASTAR®). Специалисты в соответствующей области могут определить подходящие параметры для оценки выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания на протяжении всей длины сравниваемых последовательностей.

Термин "выделенный" применяется для полипептида, который был идентифицирован и выделен из состава его природного окружения. Загрязняющие компоненты природного окружения пептида представляют собой вещества, которые могут мешать диагностическим или терапевтическим применениям данного полипептида, и могут включать ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворенные вещества. В предпочтительных вариантах исполнения полипептид будет очищен: (1) до более чем 95 вес.% при определении методом Лоури и, в наиболее предпочтительных, до более чем 99 вес.%; (2) до степени чистоты, достаточной для выявления, по крайней мере, N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности при использовании секвенатора с вращающимся стаканом; или (3) до гомогенности по результатам ДСН-ПААГ электрофореза в восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с окрашиванием кумасси синим или, предпочтительно, серебром. Термин "выделенный полипептид" включает полипептид в рекомбинантных клетках *in situ*, так как по крайней мере один компонент естественного окружения полипептида отсутствует. Обычно, однако, выделенный полипептид получают с применением по меньшей мере одной стадии очистки.

Условное обозначение "мрк", "мг/кг" или "мг на кг" используется для обозначения дозировки вещества на кг веса. Все эти условные обозначения используются равноправно на протяжении всего данного документа.

Термин "время полужизни" аминокислотной последовательности или соединения может быть в целом определен как время, необходимое для снижения концентрации полипептида в сыворотке на 50% *in vivo*, например, вследствие деградации последовательности или соединения и/или выведения или изоляции последовательности или соединения с помощью естественных механизмов. Время полужизни может быть определено любым известным способом, например, путем фармакокинетического анализа. Подходящие методы известны специалисту в соответствующей области, и могут, например, обычно, включать этапы: введения приматам подходящим способом подходящих доз исследуемой аминокислотной последовательности или соединения, описываемых в настоящем изобретении; регулярный сбор образцов крови или других образцов у указанных приматов; определения уровня или концентрации введенной аминокислотной последовательности или соединения в указанных образцах крови и вычисления, на основе полученных таким образом данных, времени, достаточного для того, чтобы уровень или концентрация аминокислотной последовательности или соединения, описываемых в данном изобретении, была снижена на 50% по сравнению с исходным уровнем при введении. Для примера см. стандартные руководства, например Kenneth A. et al., *Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists* и Peters et al., *Pharmacokinetic Analysis: A Practical Approach* (1996). Также см. Gibaldi M. et al., *Pharmacokinetics*, 2nd Rev. Edition, Marcel Dekker (1982).

Время полужизни может быть выражено с использованием таких показателей, как  $t_{1/2}$ -alpha,  $t_{1/2}$ -beta, HL\_Lambda\_z и площадь под кривой (AUC). В настоящем описании "увеличением времени полужизни" обозначается повышение любого из указанных показателей, любых двух из этих параметров, любых трех из этих параметров или всех четырех параметров. "Увеличение времени полужизни", в частности, обозначает повышение  $t_{1/2}$ -beta и/или HL\_Lambda\_z, либо совместно, либо нет, с повышением  $t_{1/2}$ -alpha и/или AUC.

#### Обзор.

Данная заявка описывает Аднектины против PCSK9 человека. Для определения специфических антагонистов для PCSK9 молекулы PCSK9 были презентованы для большой синтетической библиотеки Аднектинов. Связавшиеся с PCSK9 Аднектины были охарактеризованы по связыванию с PCSK9, биофизическим свойствам и ингибиторной активности по отношению к PCSK9. Отобранные пулы Аднектинов были подвергнуты мутагенезу и последующим раундам отбора при снижении концентрации связываемого агента и выделения Аднектинов с низкой константой диссоциации. После осуществления описанного процесса оптимизации была отобрана группа Аднектинов, специфически ингибирующих PCSK9, с желаемыми биохимическими и биофизическими свойствами.

В заявке описаны полипептиды, содержащие домен Fn3, в котором одна или более петель, доступных для растворителя, имеют случайную или мутантную первичную последовательность. В некоторых вариантах исполнения такой Fn3 домен представляет собой модифицированный относительно дикого типа домен Fn3, полученный из десятого модуля фибронектинового домена III типа человека ( $^{10}$ Fn3). В некоторых вариантах исполнения такой  $^{10}$ Fn3-полипептид, описанный в данной заявке, является по меньшей мере на 40, 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85 или 90% идентичным домену  $^{10}$ Fn3 человека.

В некоторых вариантах исполнения одна или более петель из группы BC, DE и FG может быть длиннее или короче соответствующей петли фибронектина человека.

В некоторых вариантах исполнения полипептиды, описанные в данном изобретении, содержат десятый фибронектиновый домен III типа ( $^{10}$ Fn3), в котором домен  $^{10}$ Fn3 содержит петли AB, BC, CD, DE, EF и FG и по меньшей мере одну петлю из группы: BC, DE и FG с изменением в первичной последовательности относительно последовательности в соответствующей петле домена  $^{10}$ Fn3 человека.

В некоторых вариантах исполнения полипептид, описанный в данном изобретении, содержит домен Fn3, содержащий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% идентичную последовательности непетлевых участков.

В некоторых вариантах исполнения петля BC белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из группы последовательностей SEQ ID NO: 2-17, 106-135 и 301-303. В определенных вариантах исполнения петля BC белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит затемненные участки любой из последовательностей SEQ ID NO: 2-17, 106-135 и 301-303, как показано в табл. 3. Например, в одном варианте исполнения петля BC содержит последовательность PPPSHGYG (остатки 3-10 последовательности SEQ ID NO: 2), DAPAHAYG (остатки 3-10 последовательности SEQ ID NO: 5), EPFSRLPGGGE (остатки 3-13 последовательности SEQ ID NO: 106) или DAPADGGYG (остатки 3-11 последовательности SEQ ID NO: 107).

В некоторых вариантах исполнения петля DE белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из следующей группы: SEQ ID NO 18-27 и 136-141. В определенных вариантах исполнения петля DE белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит затемненные участки любой из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141, как показано в табл. 3. Например, в одном варианте исполнения петля DE содержит последовательность

PGKG (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 18), VGVG (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 27) или VSKS (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 137).

В некоторых вариантах исполнения петля FG белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из следующей группы последовательностей: SEQ ID NO: 28-38 и 142-172. В определенных вариантах исполнения петля DE белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит затененные участки любой из последовательностей SEQ ID NO: 28-38 и 142-172, как показано в табл. 3. Например, в одном варианте исполнения петля FG содержит последовательность EYPYKHSGYHR (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 28), EYPYDYSGYHR (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 142) или EFDVFGAGYYHR (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 167).

В некоторых вариантах исполнения домен <sup>10</sup>Fn3 может содержать измененные аминокислотные остатки в начале и/или на конце последовательности, а также инсерции или делеции.

В некоторых вариантах исполнения белок, описываемый в данном изобретении, содержит одну петлю BC SEQ ID NO: 2-17, 106-135 и 301-303; одну из последовательностей петель DE SEQ ID NO: 18-27 и 136-141; одну последовательность петли FG SEQ ID NO: 28-38 и 142-172. В определенных вариантах исполнения белок, описываемый в данном изобретении, содержит одну последовательность петли BC, включающей затененную часть любой из последовательностей SEQ ID NO: 2-17, 106-135 и 301-303, показанных в табл. 3; одну последовательность петли DE, включающей затененную часть любой из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141, показанных в табл. 3; и одну последовательность петли FG, включающей затененную часть любой из последовательностей SEQ ID NO: 28-38 и 142-172, показанных в табл. 3.

В некоторых вариантах исполнения белок, описываемый в данном изобретении, содержит аминокислотные последовательности петель BC, DE и FG совпадающие по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% с любой из последовательностей SEQ ID NO: 2-38, 106-172 и 301-303. В определенных вариантах исполнения белок, описываемый в данном изобретении, содержит аминокислотные последовательности петель BC, DE и FG, совпадающие по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% с любой из затененных частей последовательностей петель BC, DE и FG, показанных в табл. 3, как это описано ранее.

В некоторых вариантах исполнения анти-PCSK9 Аднектин содержит аминокислотную последовательность любой из последовательностей SEQ ID NO: 39-76, 173-290 и 304-309.

В некоторых вариантах исполнения последовательность анти-PCSK9 Аднектина содержит с 3 по 96 позиции аминокислотной последовательности домена Fn3 любой из последовательностей SEQ ID NO: 39-76, 173-290 и 304-309.

Также в заявке описан анти-PCSK9 Аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью SW(X<sub>1</sub>)<sub>Z</sub>X<sub>2</sub>G (SEQ ID NO: 323), в которой X<sub>1</sub> представляет собой любую аминокислоту, Z - число от 6 до 9 и X<sub>2</sub> представляет собой Y или H.

Также в заявке описан анти-PCSK9 Аднектин, содержащий петлю DE с последовательностью PX<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>3</sub>T, (SEQ ID NO: 324), в которой X<sub>1</sub> представляет собой любую аминокислоту, а X<sub>3</sub> является либо G либо S.

Также в заявке описан анти-PCSK9 Аднектин, содержащий петлю FG с последовательностью EX<sub>4</sub>X<sub>1</sub>X<sub>5</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>6</sub>GYX<sub>4</sub>HRP (SEQ ID NO: 325), в которой X<sub>1</sub> представляет собой любую аминокислоту, X<sub>4</sub> является Y или F, X<sub>5</sub> является Y, F или W, X<sub>6</sub> является либо S, либо A. В определенных вариантах исполнения X<sub>4</sub> и X<sub>5</sub> представляют собой ароматические остатки, каждый из которых независимо является Y, F, W или H.

Также в заявке описан анти-PCSK9 Аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью SW(X<sub>1</sub>)<sub>Z</sub>X<sub>2</sub>G (SEQ ID NO: 323), петлю DE с последовательностью PX<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>3</sub>T (SEQ ID NO: 324) и петлю FG с последовательностью EX<sub>4</sub>X<sub>1</sub>X<sub>5</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>6</sub>GYX<sub>4</sub>HRP (SEQ ID NO: 325), как определено в данной заявке.

Также в заявке описан анти-PCSK9 Аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью SWEPFRLPGGGE (SEQ ID NO: 106), петлю DE с последовательностью PX<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>3</sub>T (SEQ ID NO: 324) и петлю FG с последовательностью EX<sub>4</sub>X<sub>1</sub>X<sub>5</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>6</sub>GYX<sub>4</sub>HRP (SEQ ID NO: 325) как определено в данной заявке.

Также в заявке описан анти-PCSK9 Аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью (X<sub>1</sub>)<sub>Z</sub>X<sub>2</sub>G (SEQ ID NO: 449), в которой X<sub>1</sub> представляет собой любую аминокислоту, Z - число в диапазоне 6-9, а X<sub>2</sub> представляет собой Y или H.

Также в заявке описан анти-PCSK9 Аднектин, содержащий петлю DE с последовательностью X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>3</sub>, (SEQ ID NO: 450), в которой X<sub>1</sub> является любой аминокислотой, X<sub>3</sub> представляет собой G или S.

Также в заявке описан анти-PCSK9 Аднектин, содержащий петлю FG с последовательностью EX<sub>4</sub>X<sub>1</sub>X<sub>5</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>5</sub>GYX<sub>4</sub>HR (SEQ ID NO: 451), в которой X<sub>1</sub> представляет собой любую аминокислоту, X<sub>4</sub> представляет собой Y или F, X<sub>5</sub> представляет собой Y, F, или W, X<sub>6</sub> представляет собой S или A. В определенных вариантах исполнения X<sub>4</sub> и X<sub>5</sub> представляют собой остатки ароматических аминокислот, каждая из которых, независимо, может быть Y, F, W или H.

Также в заявке описан анти-PCSK9 Аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью

(X<sub>1</sub>)<sub>2</sub>X<sub>2</sub>G (SEQ ID NO: 449), петлю DE с последовательностью X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>3</sub> (SEQ ID NO: 450) и петлю FG с последовательностью EX<sub>4</sub>X<sub>1</sub>X<sub>5</sub>X<sub>1</sub>X<sub>1</sub>X<sub>6</sub>GYX<sub>4</sub>HR (SEQ ID NO: 451), как определено в данной заявке.

В некоторых вариантах исполнения существует по меньшей мере одна аминокислотная делеция на N-конце последовательности PCSK9 Аднектина.

В некоторых вариантах исполнения существует по меньшей мере одна аминокислотная делеция, инсерция или замена на C-конце последовательности PCSK9 Аднектина.

В некоторых вариантах исполнения на C-конец последовательности PCSK9 Аднектина добавлена линкерная последовательность.

В некоторых вариантах исполнения PCSK9 Аднектин может быть конъюгирован с другой молекулой, нежели <sup>10</sup>Fn3, такой как сывороточный альбумин человека (HSA), как это описано в патентных заявках WO 2009/133208 и WO 2009/083804.

В некоторых вариантах исполнения PCSK9 Аднектин может содержать мутации в аминокислотных последовательностях петель AB, CD и EF, как это описано в патентных заявках WO 2009/133208 и WO 2009/083804.

Также в заявке описан PCSK9 Аднектин, содержащий фармакокинетическую группу (ПК). В одном варианте исполнения фармакокинетическая группа содержит полиэтиленгликоль (ПЭГ). В отдельных вариантах исполнения фармакокинетическая группа содержит Fc-фрагмент. В некоторых вариантах исполнения фармакокинетическая группа содержит один или несколько Аднектинов, связывающих сывороточный альбумин. Примеры слитых белков анти-PCSK9 Аднектин-Fc приведены в табл. 1. Примеры анти-PCSK9 Аднектинов, связывающих сывороточный альбумин, содержат последовательности SEQ ID NO: 618 или 619.

В определенных вариантах исполнения анти-PCSK9 Аднектины, содержащие ПК-группу, содержат последовательность, как указана в SEQ ID NO: 322.

Также в заявке описан анти-PCSK9 Аднектин, не содержащий никакой ПК-группы (т.е. "свободный" анти-PCSK9 Аднектин). В определенных вариантах исполнения свободный анти-PCSK9 Аднектин может вводиться с такой частотой, которая достаточна для достижения желаемого терапевтического эффекта. В другом варианте исполнения свободный анти-PCSK9 Аднектин может вводиться в виде лекарственной формы с пролонгированным высвобождением (например, лекарственная форма для подкожного введения). В некоторых вариантах исполнения лекарственная форма с пролонгированным высвобождением увеличивает длительность фазы абсорбции, или продлевает фармакодинамическое воздействие, или оказывает оба эффекта сразу. В качестве примера, лекарственная форма с пролонгированным высвобождением содержит раствор пропиленгликоля в фосфатном буфере (PBS).

Также в заявке описан слитый полипептид, содержащий связывающий сывороточный альбумин десятый домен III типа фибронектина (<sup>10</sup>Fn3), и анти-PCSK9 Аднектин, в котором связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 связывается с сывороточным альбумином, например HSA, с Kd 1 мкМ или меньше. В определенных вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 70% идентичную последовательности SEQ ID NO: 330. В одном из вариантов исполнения связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 содержит петлю BC с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 331, петлю DE с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 332, петлю FG с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 333. В другом варианте исполнения связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 содержит одну или более петель BC с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 331, петлю DE с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 332, петлю FG с аминокислотной последовательностью, приведенной в последовательности SEQ ID NO: 333.

В одном из вариантов исполнения данный связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 из состава слитого полипептида также способен связывать один или несколько альбуминов: сывороточный альбумин макаки-резус (RhSA), сывороточный альбумин яванской макаки (CySA) или сывороточный альбумин мыши (MuSA). В других вариантах исполнения данный связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 не обладает перекрестной реактивностью с одним или несколькими белками среди RhSA, CySA или MuSA.

В определенных вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 в составе слитого полипептида связывает HSA с Kd 1 мкМ или менее. В некоторых вариантах исполнения данный связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 связывает HSA с Kd 500 нМ или менее. В других вариантах исполнения данный связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 связывает HSA с Kd по меньшей мере 200, 100, 50, 20, 10 или 5 нМ.

В других вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 в составе слитого полипептида связывается с доменами HSA I или II. В одном варианте исполнения связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 связывает оба домена HSA (I и II). В некоторых вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 связывает HSA в диапазоне pH от 5,5 до 7,4. В других вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>Fn3 связывает HSA с Kd



200 нМ или менее при рН 5.5. В других вариантах исполнения связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> связывает HSA с Kd, по меньшей мере, 500, 200, 100, 50, 20, 10 или 5 в диапазоне от рН 5.5 до 7.4. В одном варианте исполнения связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> связывает HSA с Kd по меньшей мере 500, 200, 100, 50, 20, 10 или 5 нМ при рН 5.5.

В некоторых вариантах исполнения период полужизни в плазме слитого полипептида в присутствии сывороточного альбумина по меньшей мере в 5 раз больше, чем период полужизни этого полипептида в отсутствие сывороточного альбумина. В определенных вариантах исполнения период полужизни в плазме слитого полипептида в присутствии сывороточного альбумина по меньшей мере в 2, 5, 7, 10, 12, 15, 20, 22, 25, 27 или 30 раз выше, чем период полужизни этого полипептида в отсутствие сывороточного альбумина. В некоторых вариантах исполнения сывороточным альбумином является один из следующих альбуминов: HSA, RhSA, CySA или MuSA.

В определенных вариантах исполнения период полужизни в плазме слитого полипептида в присутствии сывороточного альбумина составляет по меньшей мере 20 ч. В определенных вариантах исполнения период полужизни в плазме слитого полипептида в присутствии сывороточного альбумина составляет по меньшей мере 10, 12, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 75, 90, 100, 110, 120, 130, 150, 170 или 200 ч. В некоторых вариантах исполнения период полужизни слитого полипептида определяется у приматов (например, человек или обезьяна) или у мышей.

В любом из описанных вариантов исполнения связывающий сывороточный альбумин домен <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> содержит последовательность, выбранную из группы последовательностей SEQ ID NO: 334, 338, 342, 346 и 348-370.

Структуры на основе фибронектина.

В данной заявке описаны полипептиды, содержащие домен F<sub>n3</sub>, в котором последовательности одной или нескольких петель, доступных для растворителя, подвергнуты случайному или направленному мутагенезу. В некоторых вариантах исполнения домен F<sub>n3</sub> представляет собой F<sub>n3</sub> домен, полученный из последовательности дикого типа десятого домена III типа фибронектина человека (<sup>10</sup>F<sub>n3</sub>)

VSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPAVTVRYRITYGETGGNSPVEFTVPGSK

STATISGLKPGVDYITITVYAVTGRGDSPASSKPISINYRT (SEQ ID NO: 1).

В указанной последовательности <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> подчеркнуты петли BC, DE и FG.

Как описано в данной заявке, последовательности <sup>10</sup>F<sub>n3</sub>, не связывающие лиганды, т.е. являющиеся "структурными участками <sup>10</sup>F<sub>n3</sub>", могут быть изменены в такой степени, чтобы домен <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> сохранял функции связывания лигандов и/или структурную стабильность. Описано большое количество различных мутантных вариантов структурных участков <sup>10</sup>F<sub>n3</sub>. В одном из объектов данного изобретения один или более аминокислотных остатков из Asp 7, Glu 9 и Asp 23 заменены на другие аминокислотные остатки, например на неотрицательно заряженные (например, Asp, Lys и др.). Было показано, что такие замены повышают стабильность <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> при нейтральных значениях рН по сравнению с доменом <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> дикого типа (см. PCT Publication № WO 02/04523). Описано большое количество дополнительных изменений структурных участков домена <sup>10</sup>F<sub>n3</sub>, которые либо оказывают полезный, либо нейтральный эффект. См., например, Batori et al., Protein Eng., 15(12): 1015-1020 (Dec. 2002); Koide et al., Biochemistry, 40(34):10326-10333 (Aug. 28, 2001).

И мутантный, и дикий тип домена <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> обладают сходной структурой, описываемой как 7 бета-участков, обозначаемых буквами от А до G, и 6 петлевых областей (петли АВ, ВС, CD, DE и FG), соединяющих упомянутые бета-участки. Бета-участки, расположенные наиболее близко к N и C-концам молекулы, могут принимать бета-подобную конформацию в растворе. В последовательности SEQ ID NO: 1 петле АВ соответствуют остатки 15-16, петле ВС соответствуют остатки 21-30. Петле CD соответствуют остатки 39-45, петле DE соответствуют остатки 51-56, петле EF соответствуют остатки 60-66, петле FG соответствуют остатки 76-87 (Xu et al., Chemistry & Biology, 9:933-942 (2002)).

В некоторых вариантах исполнения последовательность полипептида <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> может быть по меньшей мере на 40, 50, 60, 65, 70, 75, 80, 85 или 90% идентична последовательности домена <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> человека, указанной в последовательности SEQ ID NO: 1. Большая часть вариативности будет, как правило, приходиться на одну или несколько петель. Последовательности каждого из бета и бета-подобных участков полипептида <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> могут почти полностью состоять из аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 80, 85, 90, 95 или 100% идентична последовательностям соответствующих бета или бета-подобных участков последовательности SEQ ID NO: 1, таким образом, что отличия не нарушают стабильность полипептида при физиологических условиях.

В некоторых вариантах исполнения данное изобретение включает полипептиды, содержащие десятый домен III типа фибронектина (<sup>10</sup>F<sub>n3</sub>), в котором указанный домен <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> содержит петлю АВ, петлю ВС, петлю CD, петлю DE, петлю EF и петлю FG, при этом последовательность по крайней мере одной из петель ВС, DE, и FG изменена относительно последовательности соответствующей петли домена <sup>10</sup>F<sub>n3</sub> человека. В некоторых вариантах исполнения изменены последовательности петель ВС и FG, в некоторых вариантах исполнения изменены последовательности петель ВС, DE и FG, т.е. домен F<sub>n3</sub> содержит петли, структура которых отличается от таковых у природного домена. В некоторых вариантах исполне-

ния изменены последовательности петель АВ, CD и/или EF. Под "изменением" понимается наличие одного или более отличий между данной аминокислотной последовательностью и референсной (соответствующий домен фибронектина человека). Изменение включает в себя вставки, делеции и замены аминокислотных остатков. Изменение аминокислотной последовательности может быть достигнуто через введение направленных, ненаправленных или спонтанных изменений последовательности, как правило, на уровне кодирующей последовательности и может осуществляться любым способом, например ПЦР, "ошибочной" ПЦР или химическим синтезом ДНК.

В некоторых вариантах исполнения длина одной или более петель из группы BC, DE и FG, может отличаться от последовательности соответствующей петли фибронектина человека в большую и меньшую сторону. В некоторых вариантах исполнения длина петли может быть увеличена на 2-25 аминокислотных остатков. В некоторых вариантах исполнения длина петли может быть уменьшена на 1-11 аминокислотных остатков. Таким образом, для оптимизации связывания антигена длина какой-либо петли домена <sup>10</sup>Fn3 может быть изменена по длине, а также по аминокислотной последовательности для достижения наилучшей возможной гибкости и аффинности при связывании антигена.

В некоторых вариантах исполнения полипептид содержит домен Fn3, содержащий аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80, 85, 90, 95, 98, 99 ил 100% идентичную не петлевым участкам последовательности SEQ ID NO: 1, в которой по крайней мере одна петля из группы BC, DE и FG является измененной. В некоторых вариантах исполнения измененная последовательность петли BC содержит до 10 аминокислотных замен, до 4 делеций и до 10 инсерций аминокислотных остатков или комбинации данных изменений. В некоторых вариантах исполнения измененная последовательность петли DE содержит до 6 аминокислотных замен, до 4 делеций и до 13 инсерций аминокислотных остатков или комбинации данных изменений. В некоторых вариантах исполнения измененная последовательность петли FG содержит до 12 аминокислотных замен, до 11 делеций и до 25 инсерций аминокислотных остатков или комбинации данных изменений.

Как описано выше, аминокислотные остатки, соответствующие остаткам в позициях 21-30, 51-56 и 76-87 последовательности SEQ ID NO: 1, соответствуют петлям BC, DE и FG соответственно. Однако следует понимать, что не каждый аминокислотный остаток в области петли должен быть изменен для того, чтобы получить высокую аффинность <sup>10</sup>Fn3 к выбранной мишени (например, к PCSK9).

Например, нет необходимости изменять остатки 21 (S) и 22 (W) петли BC, как указано в последовательности SEQ ID NO: 1, для связывания с PCSK9. Т.е. домены <sup>10</sup>Fn3 с высокой аффинностью связывания PCSK9 могут быть получены при изменении остатков только в позициях 23-30 петли BC, как она показана в последовательности SEQ ID NO: 1. Это наглядно показано на примерах последовательностей петли BC, приведенных в табл. 3, где показано, что изменены только аминокислотные остатки в затемненных позициях приведенных последовательностей. Таким образом, в некоторых вариантах исполнения петля BC в соответствии с данным обозначением содержит затемненную часть любой из последовательностей SEQ ID NO: 2-17, 106-135 и 301-303, как это отражено в табл. 3. Например, в одном из вариантов исполнения петля BC может содержать последовательность PPPSHGYG (остатки 3-10 последовательности SEQ ID NO: 2), DAPAHAYG (остатки 3-10 последовательности SEQ ID NO: 5), EPPSRLPGGGE (остатки 3-13 последовательности SEQ ID NO: 106) или DAPADGGYG (остатки 3-11 последовательности SEQ ID NO: 107).

Сходным образом, нет необходимости изменять аминокислотные остатки в позициях 51 (P) и 56 (T) петли DE последовательности SEQ ID NO: 1 для связывания с PCSK9. Т.е. домены <sup>10</sup>Fn3 с высокой аффинностью связывания PCSK9 могут быть получены при изменении остатков только в позициях 52-55 петли DE, как она показана в последовательности SEQ ID NO: 1. Это наглядно показано на примерах последовательностей петли DE, приведенных в табл. 3, где показано, что изменены только аминокислотные остатки в затемненных позициях приведенных последовательностей. Таким образом, в некоторых вариантах исполнения петля DE в соответствии с данным обозначением содержит затемненную часть любой из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141, как это отражено в табл. 3. Например, в одном из вариантов исполнения петля DE может содержать последовательность PGKG (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 18), VGVG (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 27) или VSKS (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 137).

Сходным образом, нет необходимости изменять аминокислотные остатки в позиции 87 (P) петли FG последовательности SEQ ID NO: 1 для связывания с PCSK9. Т.е. домены <sup>10</sup>Fn3 с высокой аффинностью связывания PCSK9 могут быть получены при изменении остатков только в позициях 76-86 петли FG, как она показана в последовательности SEQ ID NO: 1. Это наглядно показано на примерах последовательностей петли FG, приведенных в табл. 3, где показано, что изменены только аминокислотные остатки в затемненных позициях приведенных последовательностей. Таким образом, в некоторых вариантах исполнения петля FG в соответствии с данным обозначением содержит затемненную часть любой из последовательностей SEQ ID NO: 28-38 и 142-172, как это отражено в табл. 3. Например, в одном из вариантов исполнения петля FG может содержать последовательность EYPYKHSGYHR (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 28), EYPYDYSGYHR (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 142) или EFDVFGAGYYHR (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 167).

В некоторых вариантах исполнения настоящая заявка демонстрирует, что петли BC, DE и FG могут быть в общем виде описаны соответствующими консенсусными последовательностями. Например, петля BC может быть в общем виде описана с помощью консенсусной последовательности  $SW(X_1)_Z X_2 G$  (SEQ ID NO: 323), в которой  $X_1$  представляет собой любую аминокислоту,  $Z$  является числом от 6 до 9,  $X_2$  представляет собой Y или H. Данная консенсусная последовательность представлена в виде примеров последовательностей петель BC в табл. 3, за исключением петли BC, определяемой последовательностью SEQ ID NO: 106. В других вариантах исполнения  $Z$  является числом от 2 до 5. В определенных вариантах исполнения,  $X_2$  является остатком любой ароматической аминокислоты (т.е. Y, F, W или H).

В другом варианте исполнения петля DE может в общем виде быть выражена с помощью консенсусной последовательности  $PX_1 X_1 X_1 X_3 T$ , (SEQ ID NO: 324), в которой  $X_1$  представляет собой любую аминокислоту,  $X_3$  представляет собой G или S. Данная консенсусная последовательность представлена в виде примеров последовательностей петель DE в табл. 3.

В другом варианте исполнения петля FG может быть в общем виде выражена с помощью консенсусной последовательности  $EX_4 X_1 X_5 X_1 X_1 X_6 GYX_4 HRP$  (SEQ ID NO: 325), в которой  $X_1$  представляет собой любую аминокислоту,  $X_4$  представляет собой Y или F,  $X_6$  представляет собой Y, F или W,  $X_6$  представляет собой S или A. В определенных вариантах исполнения  $X_4$  и  $X_5$  являются остатками ароматических аминокислот, каждый из которых, независимо, может быть Y, F, W или H. Данная консенсусная последовательность представлена в виде примеров последовательностей петель FG в табл. 3.

Соответственно, в определенных вариантах исполнения настоящая заявка описывает связывающий PCSK9 Аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью  $SW(X_1)_Z X_2 G$  (SEQ ID NO: 323), петлю DE с последовательностью  $PX_1 X_1 X_1 X_3 T$  (SEQ ID NO: 324) и петлю FG с последовательностью  $EX_4 X_1 X_5 X_1 X_1 X_6 GYX_4 HRP$  (SEQ ID NO: 325) в соответствии с приведенным выше описанием.

В других вариантах исполнения настоящая заявка описывает связывающий PCSK9 Аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью  $SWEFPSRLPGGGE$  (SEQ ID NO: 106), петлю DE с последовательностью  $PX_1 X_1 X_1 X_3 T$  (SEQ ID NO: 324) и петлю FG с последовательностью  $EX_4 X_1 X_5 X_1 X_1 X_6 GYX_4 HRP$  (SEQ ID NO: 325) в соответствии с приведенным выше описанием.

В определенных вариантах исполнения последовательность петли BC может быть в общем виде выражена с помощью консенсусной последовательности  $(X_1)_Z X_2 G$  (SEQ ID NO: 449), в которой  $X_1$  представляет собой любую аминокислоту,  $Z$  является любым числом от 6 до 9,  $X_2$  представляет собой Y или H. Данная консенсусная последовательность представлена в виде примеров последовательностей петель BC в табл. 3, за исключением петли BC, определяемой последовательностью SEQ ID NO: 106. В других вариантах исполнения  $Z$  является любым числом от 2 до 5. В определенных вариантах исполнения  $Z$  является любым числом от 10 до 15. В некоторых вариантах исполнения  $X_2$  является остатком любой ароматической аминокислоты (т.е. Y, F, W или H).

В определенных вариантах исполнения петля DE может в общем виде быть выражена с помощью консенсусной последовательности  $X_1 X_1 X_1 X_3$ , (SEQ ID NO: 450), в которой  $X_1$  представляет собой любую аминокислоту,  $X_3$  представляет собой G или S. Данная консенсусная последовательность представлена в виде примеров последовательностей петель DE в табл. 3.

В определенных вариантах исполнения петля FG может в общем виде быть выражена с помощью консенсусной последовательности  $EX_4 X_1 X_5 X_1 X_1 X_6 GYX_4 HR$  (SEQ ID NO: 451), в которой  $X_1$  представляет собой любую аминокислоту,  $X_4$  представляет собой Y или F,  $X_6$  представляет собой Y, F или W,  $X_6$  представляет собой S или A. В определенных вариантах исполнения  $X_4$  и  $X_5$  являются остатками ароматических аминокислот, каждый из которых, независимо, может быть Y, F, W или H. Данная консенсусная последовательность представлена в виде примеров последовательностей петель FG в табл. 3.

Соответственно, в одном варианте исполнения настоящая заявка описывает связывающий PCSK9 Аднектин, содержащий петлю BC с последовательностью  $(X_1)_Z X_2 G$  (SEQ ID NO: 449), петлю DE с последовательностью  $X_1 X_1 X_1 X_3$  (SEQ ID NO: 450) и петлю FG с последовательностью  $EX_4 X_1 X_5 X_1 X_1 X_6 GYX_4 HR$  (SEQ ID NO: 451) в соответствии с приведенным выше описанием.

В определенных вариантах исполнения иммуноглобулин-подобные белки, основанные на структурной части  $^{10}Fn3$ , могут быть определены в общем виде следующей последовательностью:

$EVVAAT(X)_a SLLI(X)_x YYRITYGE(X)_b QEFTV(X)_y ATI(X)_c DYTITVYAV(X)_z ISINY$

RT (SEQ ID NO:328)

В последовательности SEQ ID NO: 328 петля AB представлена  $X_a$ , петля CD представлена  $X_b$ , петля EF представлена  $X_c$ , петля BC представлена  $X_x$ , петля DE представлена  $X_y$ , петля FG представлена  $X_z$ . X обозначает любую аминокислоту, индекс X обозначает целое число аминокислотных остатков. В частности, a в любом месте может составлять 1-15, 2-15, 1-10, 2-10, 1-8, 2-8, 1-5, 2-5, 1-4, 2-4, 1-3, 2-3 или 1-2 аминокислотных остатка; b, c, x, y и z, каждый независимо, в любом месте могут составлять 2-20, 2-15, 2-10, 2-8, 5-20, 5-15, 5-10, 5-8, 6-20, 6-15, 6-10, 6-8, 2-7, 5-7 или 6-7 аминокислотных остатков. В предпочтительных вариантах исполнения a составляет 2 аминокислотных остатка, b составляет 7 аминокислотных остатков, c составляет 7 аминокислотных остатков, x составляет 9 аминокислотных остатков, y составляет 6 аминокислотных остатков, z составляет 12 аминокислотных остатков. Последовательности

данных бета участков могут иметь в любом месте от 0 до 10, от 0 до 8, от 0 до 6, от 0 до 5, от 0 до 4, от 0 до 3, от 0 до 2, от 0 до 1 аминокислотной замены, делеции или вставки на протяжении всех 7 структурных областей относительно соответствующих аминокислотных остатков, указанных в последовательности SEQ ID NO: 1. В определенных вариантах исполнения аминокислотные остатки, составляющие коровую часть, фиксированы и любые замены, консервативные замены, делеции или вставки производятся с любыми другими аминокислотными остатками.

В примерах осуществления петли BC, DE и FG представленные последовательностями  $(X)_x$ ,  $(X)_y$  и  $(X)_z$ , соответственно, заменены полипептидами, содержащими последовательности петель BC, DE и FG любых вариантов белков, связывающих PCSK9, представленных в табл. 3, или затемненные области этих вариантов, или консенсусные последовательности 323-325 или 449-451.

В определенных вариантах исполнения иммуноглобулин-подобные белки на основе структуры <sup>10</sup>Fn3 могут быть в общем виде определены следующей последовательностью:

EVVAATPTSLI(X)<sub>x</sub>YYRITYGETGGNSPVQEFV(X)<sub>y</sub>ATISGLKPGVDYTITVYA

V(X)<sub>z</sub>ISINYRT (SEQ ID NO:329)

В последовательности SEQ ID NO: 329 петля BC представлена  $X_x$ , петля DE представлена  $X_y$ , петля FG представлена  $X_z$ . X обозначает любую аминокислоту, индекс X обозначает целое число аминокислотных остатков. В частности, x, y и z каждый независимо в любом месте может составлять 2-20, 2-15, 2-10, 2-8, 5-20, 5-15, 5-10, 5-8, 6-20, 6-15, 6-10, 6-8, 2-7, 5-7 или 6-7 аминокислотных остатков. В предпочтительных вариантах исполнения x составляет 9 аминокислотных остатков, y составляет 6 аминокислотных остатков, z составляет 12 аминокислотных остатков. Последовательности данных бета участков могут иметь в любом месте от 0 до 10, от 0 до 8, от 0 до 6, от 0 до 5, от 0 до 4, от 0 до 3, от 0 до 2, от 0 до 1 аминокислотной замены, делеции или вставки на протяжении всех 7 структурных областей относительно соответствующих аминокислотных остатков, указанных в последовательности SEQ ID NO: 1. В примерах осуществления изобретения последовательности данных бета участков могут иметь в любом месте от 0 до 10, от 0 до 8, от 0 до 6, от 0 до 5, от 0 до 4, от 0 до 3, от 0 до 2, от 0 до 1 консервативной аминокислотной замены на протяжении всех 7 структурных областей относительно соответствующих аминокислотных остатков, указанных в последовательности SEQ ID NO: 1. В определенных вариантах исполнения коровые аминокислотные остатки фиксированы и любые замены, консервативные замены, делеции или вставки производятся с любыми другими аминокислотными остатками. В примерах осуществления петли BC, DE и FG, представленные последовательностями  $(X)_x$ ,  $(X)_y$ , и  $(X)_z$ , соответственно, заменены полипептидами, содержащими последовательности петель BC, DE и FG любых вариантов белков, связывающих PCSK9, представленных в табл. 3, или затемненные области этих вариантов, или консенсусные последовательности 323-325 или 449-451.

В определенных вариантах исполнения анти- PCSK9 Аднектин, описанный в данной заявке, может содержать последовательность, как указано в SEQ ID NO: 328 или 329, в которой петли BC, DE и FG, представленные последовательностями  $(X)_x$ ,  $(X)_y$ , и  $(X)_z$  соответственно, заменены соответствующим набором определенных последовательностей петель BC, DE и FG от любого из клонов в табл. 3, или последовательности, по меньшей мере на 75, 80, 85, 90, 95, 97, 98 или 99% идентичные последовательностям петель BC, DE и FG клонов, приведенных в табл. 3. В примерах осуществления изобретения анти-PCSK9 Аднектин, описанный в данной заявке, определяется последовательностью SEQ ID NO: 329 и содержит соответствующий набор последовательностей петель BC, DE и FG из любого из клонов, приведенных в табл. 3. Например, клон 1459D05 в табл. 3 содержит такие же последовательности петель BC, DE и FG, как в последовательностях SEQ ID NO: 2, 18 и 28 соответственно. Таким образом, анти-PCSK9 Аднектин на основе данных петель может содержать последовательность SEQ ID NO: 328 или 329, в которой  $(X)_x$  содержит последовательность SEQ ID NO: 2,  $(X)_y$  содержит последовательность SEQ ID NO: 18 и  $(X)_z$  содержит последовательность SEQ ID NO: 28. Схожие конструкции могут быть реализованы с использованием набора петель BC, DE и FG других клонов, указанных в табл. 3, или консенсусных последовательностей 323-325 или 449-451. Структурные части таких вариантов анти-PCSK9 Аднектина могут содержать в любой части от 0 до 20, от 0 до 15, от 0 до 10, от 0 до 8, от 0 до 6, от 0 до 5, от 0 до 4, от 0 до 3, от 0 до 2, от 0 до 1 аминокислотной замены, консервативной аминокислотной замены, делеции или вставки относительно аминокислотных остатков структурной части, указанных в последовательности SEQ ID NO: 1. Такие структурные модификации могут осуществляться до тех пор, пока анти-PCSK9 Аднектин способен связывать PCSK9 с желаемой  $K_D$ .

В некоторых вариантах исполнения петля BC белка, описываемого в данном изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из следующей группы: SWPPSHGYG (SEQ ID NO: 2), SWRPIHAYG (SEQ ID NO: 3), SWDAPIHAYG (SEQ ID NO: 4), SWDAPAHAYG (SEQ ID NO: 5) и SWDAPAVTYG (SEQ ID NO: 6), SWSPANGYG (SEQ ID NO: 7), SWTPPKGYG (SEQ ID NO: 8), SWRPPSHAYG (SEQ ID NO: 9), SWDPPSHAYG (SEQ ID NO: 10), SWEPPSHAYG (SEQ ID NO: 11), SWSPSHAYG (SEQ ID NO: 12), SWRPPSNGHG (SEQ ID NO: 13), SWVPPSDDYG (SEQ ID NO: 14), SWVPSSHAYG (SEQ ID NO: 15), SWDPSSHAYG (SEQ ID NO: 16) и SWEPPSSHAYG (SEQ ID NO: 17). В последующих вариантах исполнения петля BC белка, описываемого в данном изобретении, содержит

аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 106-135 и 301-303. В других вариантах исполнения петля BC белка, описываемого в изобретении, содержит затемненную часть любой из последовательностей SEQ ID NO: 2-17, 106-135 и 301-303, как показано в табл. 3. Например, в одном из вариантов исполнения петля BC содержит последовательность PPPSHGYG (остатки 3-10 последовательности SEQ ID NO: 2), DAPAHAYG (остатки 3-10 последовательности SEQ ID NO: 5), EPFSRLPGGGE (остатки 3-13 последовательности SEQ ID NO: 106) или DAPADGGYG (остатки 3-11 последовательности SEQ ID NO: 107).

В некоторых вариантах исполнения петля DE белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из следующей группы: PPGKGT (SEQ ID NO: 18), PIVEGT (SEQ ID NO: 19), PGSEGT (SEQ ID NO: 20), PGSKGT (SEQ ID NO: 21), PGSKST (SEQ ID NO: 22), PVGRGT (SEQ ID NO: 23), PVGEGT (SEQ ID NO: 24), PIGKGT (SEQ ID NO: 25), PVNEGТ (SEQ ID NO: 26) и PVGVGT (SEQ ID NO: 27). В последующих вариантах исполнения петля DE белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 136-141. В других вариантах исполнения петля DE белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит затемненную часть любой из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141, как показано в табл. 3. Например, в одном из вариантов исполнения петля DE содержит последовательность PGKG (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 18), VGVG (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 27) или VSKS (остатки 2-5 последовательности SEQ ID NO: 137).

В некоторых вариантах исполнения петля FG белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из следующей группы: EYPYKHSYGYHHRP (SEQ ID NO: 28), EYTFKHSYGYHHRP (SEQ ID NO: 29), EYTYKGSYGYHHRP (SEQ ID NO: 30), EYTYNGAGYHHRP (SEQ ID NO: 31), EYTYIGAGYHHRP (SEQ ID NO: 32), EYTYEGAGYHHRP (SEQ ID NO: 33), EYAYNGAGYHHRP (SEQ ID NO: 34), EYPWKGSYGYHHRP (SEQ ID NO: 35), EFPFKWSYGYHHRP (SEQ ID NO: 36), EFPWPHAGYHHRP (SEQ ID NO: 37) и EYAFEGAGYHHRP (SEQ ID NO: 38). В последующих вариантах исполнения петля FG белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 142-172. В других вариантах исполнения петля FG белка, описываемого в настоящем изобретении, содержит затемненную часть любой из последовательностей SEQ ID NO: 28-38 и 142-172, как показано в табл. 3. Например, в одном из вариантов исполнения петля FG содержит последовательность EYPYKHSYGYHHR (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 28), EYPYDYSYGYHHR (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 142) или EFDYVAGYHHR (остатки 1-12 последовательности SEQ ID NO: 167).

В некоторых вариантах исполнения белок, описываемый в настоящем изобретении, содержит одну последовательность петли BC, выбранную из группы последовательностей BC, включающих последовательности SEQ ID NO: 2-17, 106-135 и 301-303, или затемненную часть любой одной из последовательностей SEQ ID NO: 2-17, 106-135 и 301-303, как показано в табл. 3; одну последовательность петли DE, выбранную из группы последовательностей петель DE, включающих последовательности SEQ ID NO: 18-27 и 136-141, или затемненную часть любой одной из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141 как показано в табл. 3; и одну последовательность петли FG, выбранную из группы последовательностей FG, включающих последовательности SEQ ID NO: 28-38 и 142-172, или затемненную часть любой одной из последовательностей SEQ ID NO: 28-38 и 142-172 как показано в табл. 3. В некоторых вариантах исполнения белок, описываемый в настоящем изобретении, содержит аминокислотные последовательности петель BC, DE и FG, по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% идентичные любой одной из последовательностей SEQ ID NO: 2-38, 106-172, 301-303. В других вариантах исполнения белок, описываемый в настоящем изобретении, содержит аминокислотные последовательности петель BC, DE и FG, по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% идентичные затемненной части любой из последовательностей SEQ ID NO: 2-38, 106-172, 301-303, как показано в табл. 3.

В некоторых вариантах исполнения аминокислотная последовательность анти-PSCK9 Аднектина содержит любую из последовательностей SEQ ID NO: 39-76, 173-290 и 304-309. В некоторых вариантах исполнения анти-PSCK9 Аднектин содержит фрагмент аминокислотной последовательности домена Fn3 с 3 по 96 позиции любой из последовательностей SEQ ID NO: 39-76, 173-290 и 304-309. В некоторых вариантах исполнения анти-PSCK9 Аднектин содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98, 99 или 100% идентичную любой из последовательностей SEQ ID NOS: 39-76, 173-290 и 304-309.

Фибронектин связывается с интегринами различных типов за счет интегрин-связывающего мотива - аргинин-глицин-аспарагиновая кислота (RGD). В некоторых вариантах исполнения белок, описываемый в данном изобретении, содержит домен <sup>10</sup>Fn3 без интегрин-связывающего (RGD) мотива. Интегрин-связывающий мотив может быть удален путем видоизменения последовательности RGD за счет аминокислотных замен, делеций или инсерций.

В определенных вариантах исполнения молекулы анти-PSCK9 Аднектина, описываемые в настоящем изобретении, могут быть модифицированы за счет удлинения N- или C-концевых частей. Например, последовательность MG может быть добавлена на N-конец последовательности домена <sup>10</sup>Fn3, определяемой последовательностью SEQ ID NO: 1. Добавочная аминокислота M обычно отщепляется, оставляя

на N-конце белка аминокислотный остаток G. В другом случае первые 10 аминокислотных остатков последовательности анти-PSCK9 Аднектина, приведенной в табл. 4, могут быть заменены другой N-концевой последовательностью, называемой в данном документе N-концевым удлинением, как показано в табл. 6 (например, SEQ ID NO: 371-379). Кроме того, M, G или MG могут быть помещены на N-конец любого N-концевого удлинения, SEQ ID NO: 371-379. Анти-PSCK9 Аднектины, описанные в данной заявке, могут также содержать различные C-концевые последовательности, называемые в данном документе C-концевыми удлинениями. Например, последовательность анти-PSCK9 Аднектина, показанная в табл. 4, может быть укорочена после треонина, соответствующего треонину в 94 положении последовательности SEQ ID NO: 1 (т.е. укорочена после последовательности INYRT (SEQ ID NO: 636)). Такой укороченный вариант может быть использован в качестве терапевтической молекулы в укороченной форме, или может быть добавлена другая C-концевая последовательность после остатка треонина. Примеры C-концевых удлиняющих последовательностей приведены в табл. 6 как SEQ ID NO: 380-395. Примеры последовательностей анти-PSCK9 Аднектина, содержащих C-концевые удлинения, приведены в табл. 4. Например, последовательность SEQ ID NO: 49 (клон 1813E02) содержит естественную C-концевую удлиняющую последовательность EIDKPSQ (SEQ ID NO: 380) с последующей последовательностью His6-тэга (SEQ ID NO: 637). Однако стоит понимать, что последовательность His6-тэга полностью необязательна.

В отдельных вариантах исполнения последовательности C-концевого удлинения (также называемые "хвосты"), содержат остатки E и D и могут быть от 8 до 50, от 10 до 30, от 10 до 20, от 5 до 10 и 2 и 4 аминокислотных остатка длиной. В некоторых вариантах исполнения последовательности "хвостов" включают линкеры на основе ED, в которых последовательность состоит из тандемных повторов ED. В примерах осуществления изобретения "хвосты" содержат 2-10, 2-7, 2-5, 3-10, 3-7, 3-5, 3, 4 или 5 повторов ED. В определенных вариантах исполнения "хвосты" на основе ED также могут включать дополнительные аминокислотные остатки, такие как, например: EI (SEQ ID NO: 385), EID, ES, EC, EGS и EGC. Эти последовательности сходны с известными последовательностями "хвостов" Аднектина, такими как EIDKPSQ (SEQ ID NO: 380), в которых удалены остатки D и K. В примерах осуществления изобретения такие ED-хвосты содержат остатки E, I или EI (SEQ ID NO: 385) перед ED-повторами.

В других вариантах исполнения, N- и C-концевые последовательности могут быть комбинированы с последовательностями других известных линкеров (например, SEQ ID NO: 396-419 в табл. 6), если это необходимо при конструировании слитых вариантов анти-PSCK9 Аднектина. Примеры последовательностей анти-PSCK9 Аднектина, содержащих линкерные последовательности, приведены в табл. 4 (например, SEQ ID NO: 53, 55 и 57). В некоторых вариантах исполнения C-концевая последовательность может быть добавлена к последовательности домена <sup>10</sup>Fn3 для упрощения прикрепления фармакокинетической группы. Например, цистеин-содержащая линкерная последовательность, такая как GSGC (SEQ ID NO: 77), может быть добавлена на C-конец для сайт-направленного пэгилирования данного остатка цистеина.

#### Фармакокинетические части.

Одним из объектов, описываемых данной заявкой на изобретение, является анти-PCSK9 Аднектин, содержащий фармакокинетическую (ПК) часть. Улучшенная фармакокинетика может быть желательна в соответствии с имеющейся терапевтической необходимостью. Часто желательно повысить биодоступность и/или увеличить время между введением доз препарата, что возможно за счет увеличения периода времени, когда белок остается доступным в сыворотке крови после введения препарата. В некоторых случаях желательно поддерживать постоянную концентрацию белка в плазме (например, уменьшить различие между концентрацией белка в сыворотке вскоре после введения и незадолго до следующего введения). Анти-PCSK9 Аднектин может быть присоединен к определенной группировке, которая снижает скорость выведения полипептида у млекопитающих (например, мышей, крыс или человека) более чем в три раза по сравнению с немодифицированным анти-PCSK9 Аднектином. Другие показатели улучшения фармакокинетики включают в себя время полужизни в плазме, которое часто делится на альфа- и бета-фазу. Показатели каждой или обеих фаз могут быть значительно улучшены путем добавления соответствующей ПК-группы.

Молекулы, замедляющие выведение белка из крови, в данном документе называются "ПК-группы" и включают полиоксоалкиленовые группы, например, полиэтиленгликоль, сахара (например, сиаловая кислота) и хорошо переносимые белковые группы (например, Fc-фрагмент и его части и их варианты, трансферрин, сывороточный альбумин). Анти-PCSK9 Аднектин может быть слит с альбумином или с его фрагментом (частью) или с одним из вариантов альбумина, как описано в U.S. Publication № 2007/0048282. В некоторых вариантах исполнения анти-PCSK9 Аднектин может быть слит с одним или более Аднектином, связывающим сывороточный альбумин, как описано в данной заявке.

В некоторых вариантах исполнения ПК-группой является белок, связывающий сывороточный альбумин, например такие белки, как описанные в U.S. Publication № 2007/0178082 и 2007/0269422.

В некоторых вариантах исполнения ПК-группой является сывороточный белок, связывающий иммуноглобулины, например такие белки, как описанные в U.S. Publication № 2007/0178082.

В некоторых вариантах исполнения анти-PCSK9 Аднектин содержит полиэтиленгликоль (ПЭГ). C

помощью реакций с аминами, тиолами или другими подходящими реакционными группами одна или несколько молекул ПЭГ могут быть соединены с анти-PCSK9 Аднектином в различных положениях. Для этого может быть использована первичная аминогруппа на N-конце белка или боковые группы аминокислотных остатков, таких как лизин или аргинин. В некоторых вариантах исполнения ПЭГ присоединен в одном из положений, выбранных из группы: а) N-конец; б) между N-концом и наиболее близко расположенным к N-концу бета или бета-подобным участком; в) на петле, расположенной на обратной по отношению к сайту связывания поверхности полипептида; д) между C-концом и наиболее близко расположенным к C-концу бета или бета-подобным участком; и е) на C-конце полипептида.

Пэгирование может осуществляться с помощью сайт-направленного пэгирования, при котором в белок вводится подходящая реакционная группа для создания сайта, по которому преимущественно будет происходить пэгирование. В некоторых вариантах исполнения последовательность белка модифицируется введением остатка цистеина в необходимой позиции, что обеспечивает направленное пэгирование по данному остатку цистеина. ПЭГ различается по молекулярному весу в широких пределах и может быть разветвленным или линейным. В одном варианте исполнения ПЭГ имеет две цепи. В другом варианте исполнения ПЭГ имеет 4 цепи.

В некоторых вариантах исполнения анти-PCSK9 Аднектин слит с иммуноглобулиновым Fc-фрагментом, или его частью, или вариантом фрагмента или части. В примере осуществления изобретения используется Fc-фрагмент иммуноглобулинов подкласса IgG1, однако Fc-фрагменты других подклассов иммуноглобулинов (например, IgG2, IgG3 и IgG4) также могут быть использованы. Ниже приведена последовательность Fc-фрагмента иммуноглобулина IgG1 человека, в которой относительные положения каждой области отмечены в соответствии с номенклатурой Евросоюза (EU)

*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ*

*SSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGPP*

*SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ*

*YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP*

*SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT*

*VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO: 315)

Коровая последовательность шарнирной области выделена подчеркиванием, CH1 область выделена курсивом, CH2 и CH3 области указаны обычным шрифтом. Следует понимать, что C-концевой остаток лизина необязателен.

Указанный слитый белок может быть получен путем присоединения последовательности анти-PCSK9 Аднектина к любому из концов последовательности Fc-домена, т.е. могут быть получены слитые белки Fc-анти-PCSK9 Аднектин или анти-PCSK9 Аднектин-Fc. В определенных вариантах исполнения Fc-фрагмент и анти-PCSK9 Аднектин соединяются при помощи линкерной последовательности. Примеры линкерных последовательностей включают AGGGGSG (SEQ ID NO: 310), GSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 311), QPDEPGGS (SEQ ID NO: 312), ELQLEESAAEAQDGELD (SEQ ID NO: 313), TVAAPS (SEQ ID NO: 314), KAGGGGSG (SEQ ID NO: 620), KSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 621), KQPDEPGGS (SEQ ID NO: 622), KELQLEESAAEAQDGELD (SEQ ID NO: 623), KTVAAPS (SEQ ID NO: 624), KAGGGGSGG (SEQ ID NO: 625), KSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 626), KQPDEPGSG (SEQ ID NO: 627), KELQLEESAAEAQDGELDG (SEQ ID NO: 628), KTVAAPSG (SEQ ID NO: 629), AGGGGSGG (SEQ ID NO: 630), GSGSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 631), QPDEPGSG (SEQ ID NO: 632), ELQLEESAAEAQDGELDG (SEQ ID NO: 633) и TVAAPSG (SEQ ID NO: 634).

В некоторых вариантах исполнения Fc-домен, входящий в состав слитого белка с анти-PCSK9 Аднектином, содержит последовательность шарнирной области Fc-домена. При использовании в данной заявке термин "шарнирная область" включает коровые аминокислотные остатки шарнирной области молекулы IgG1 в позициях 104-119 последовательности SEQ ID NO: 315 (DKTHTCPPCPAPELLG; SEQ ID NO: 316), соответствующие участку 221-236 по номенклатуре Евросоюза. В определенных вариантах исполнения слитый белок анти-PCSK9 Аднектин-Fc мультимеризуется (например, образует димер), частично за счет остатков цистеина внутри шарнирной области в позициях 109 и 112 последовательности SEQ ID NO: 315 (позиции 226 и 229 по номенклатуре Евросоюза соответственно). В других вариантах исполнения шарнирная область, как описывается в данной заявке, может дополнительно включать аминокислотные остатки областей CH1 и CH2, фланкирующих коровую последовательность шарнирной области, как показано в последовательности SEQ ID NO: 315.

В некоторых вариантах исполнения шарнирная последовательность может содержать замены, придающие желаемые фармакодинамические, биофизические и/или биологические свойства. Некоторые примеры последовательностей шарнирной области включают следующие:

*EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPS* (SEQ ID NO: 317; коровая последовательность шарнирной области подчеркнута), *EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGSS* (SEQ ID NO: 318; коровая последовательность шарнирной области подчеркнута), *EPKSSGSTHTCPPCPAPELLGSS* (SEQ ID NO: 319; коровая последовательность шарнирной области подчеркнута), *DKTHTCPPCPAPELLGGPS* (SEQ ID NO: 320; коровая последователь-

ность шарнирной области подчеркнута) и DKTHTCPPCPAPPELLGGSS (SEQ ID NO: 321, коровья последовательность шарнирной области подчеркнута). В одном варианте исполнения остаток Р в положении 122 (238 по номенклатуре Евросоюза) последовательности SEQ ID NO: 315 заменен на остаток S для нарушения эффекторной функции Fc-фрагмента. Пример данной замены приведен в любой из последовательностей SEQ ID NO: 318, 319 и 321. В другом варианте исполнения остатки DK в положении 104-105 последовательности SEQ ID NO: 315 (221-222 по номенклатуре Евросоюза) заменены на остатки GS для удаления потенциального сайта сшивки. Пример такой замены показан в последовательности SEQ ID NO: 319. В другом варианте исполнения остаток С в положении 103 последовательности SEQ ID NO: 315 (220 по номенклатуре Евросоюза) заменен на остаток S для предотвращения формирования неправильной дисульфидной связи в отсутствие легкой цепи. Пример такой замены приведен в последовательностях SEQ ID NO: 317-319.

В определенных вариантах исполнения слитый белок анти-PCSK9 Аднектин-Fc может обладать следующими конфигурациями: 1) анти-PCSK9 Аднектин-шарнирная область-Fc, 2) шарнирная область-Fc- анти-PCSK9 Аднектин. Таким образом, любой вариант анти-PCSK9 Аднектина, описываемый в настоящем изобретении, может быть введен в состав слитого белка с Fc-доменом, содержащего последовательность шарнирной области, в соответствии с данными конфигурациями. В некоторых вариантах исполнения для соединения модулей анти-PCSK9 Аднектин и шарнирная область-Fc может использоваться линкер. В этом случае слитый белок может обладать, например, следующей конфигурацией: шарнирная область- анти-PCSK9 Аднектин-линкер-Fc. Кроме того, в зависимости от системы наработки слитых белков на N-конце слитого белка может располагаться лидерная сигнальная последовательность. Например, если слитый белок продуцируется в клетках млекопитающих, следующая лидерная последовательность может быть введена на N-конец слитого белка: METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO: 326). Если слитый белок продуцируется в системе E.coli, на N-конец слитого белка будет введен остаток метионина.

Пример последовательности слитого белка анти-PCSK9 Аднектин-шарнирная область-Fc, продуцируемого в клетках млекопитающих

**METDTLLLWVLLLWVPGSTGGVSDVPRDLEVVAATPTSLISWVPPSDDYGYR**  
*ITYGETGGNSPVQEFVPIGKGTATISGLKPGVDYTTIVYAVEFPWPHAGYYHRPISINYRTEI*  
EPKSSGSTHTCPPCPAPPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF  
 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP  
 IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN  
 NYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG  
 K (SEQ ID NO: 322).

В данном примере Fc-домен содержит последовательности областей CH1, CH2 и CH3 иммуноглобулинов G1 человека

VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY  
 NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS  
 RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTV  
 DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 448)

и шарнирная область последовательности SEQ ID NO: 319. В последовательности SEQ ID NO: 322 последовательность лидерного пептида выделена жирным шрифтом, последовательность анти-PCSK9 Аднектина выделена курсивом, шарнирная область подчеркнута. Следует понимать, что остаток лизина на конце последовательности SEQ ID NO: 322 необязателен. Эффективность слитого полипептида, приведенного в последовательности SEQ ID NO: 322 (также описываемого в данной заявке как PRD460) показана в примере 4.

Примеры слитых белков PCSK9 Аднектин-Fc приведены в табл. 1. Все последовательности могут начинаться с метионина и лидерной сигнальной последовательности клеток млекопитающих (например, SEQ ID NO: 326).



Таблица 1. Примеры последовательностей слитых белков анти-PCSK9 Аднектин-Fc

EQ ID	Клон или название	Описание	Последовательность
<b>PCSK9 Аднектин-X<sub>1</sub>-Fc C-концевые варианты</b>			
52	1459 D05-Fc слитый белок	X <sub>1</sub> является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWPPPSH GYGYRITYGETGGNSPVQEFVPPGKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPYKHSGYHNPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
		(SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X <sub>2</sub> выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
53	1784F 03-Fc слитый белок	X <sub>1</sub> является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X <sub>2</sub> выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWRPPIH AYGYRITYGETGGNSPVQEFVPIVEGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYTFKHSGYHNPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
54	1784F 03-m1-Fc слитый белок	X <sub>1</sub> является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X <sub>2</sub> выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPIH AYGYRITYGETGGNSPVQEFVPGSEGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYTFKHSGYHNPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
	1784F	X <sub>1</sub> является	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAH

55	03-m2-Fc слитый белок	необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	AYGYRITYGETGGNSPVQEFVPGSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
56	1784F 03-m3-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWDAPAV TYGYRITYGETGGNSPVQEFVPGSKSTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
57	1813E 02-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWSPAN GYGYRITYGETGGNSPVQEFVPGRGATATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYTYKSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT

		NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	QKSLSLSPG
58	1923В 02–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWTPPPK GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVGEGETATIS GLKPGVDYTIITVYAVEYTYNGAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
59	1923В 02(N82I)–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWTPPPK GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVGEGETATIS GLKPGVDYTIITVYAVEYTYIGAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTIITPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
60	1923В 02(N82E) –Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWTPPPK GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVGEGETATIS GLKPGVDYTIITVYAVEYTYEGAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

		EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
61	1923B 02(T80A) –Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLISWTPPPK GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVGEGETATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYAYNGAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
62	1922 G04–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLISWRPPSH AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVPIGKGATATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPWKGGYGYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
63	1922 G04(R25D)–	X1 является необязательным и, если	GVSDVPRDLEVVAATPTSLISWDPPSH AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVPIGKGATATIS

	Fc слитый белок	присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GLKPGVDYTTITVYAVEYPWKSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNNHYT QKSLSLSPG
64	1922 G04(R25E)- Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWEPSSH AYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPWKSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNNHYT QKSLSLSPG
65	1922 G04(R25S) – Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-	GVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWSPSSH AYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPIGKTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPWKSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNNHYT QKSLSLSPG

		фрагмент может включать С-концевой остаток К	
66	2012 A04-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWRPPSN GHGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVNEGATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFPFKWVSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
67	2013E 01-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWVPPSD DYGYYRITYGETGGNSPVQEFVTVPIGKGATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
68	2011 H05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWVPSSH AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVVGATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

		выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
69	2011 H05(V23D)– Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPSSH AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVGVGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
70	2011 H05(V23E) – Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPSSH AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVGVGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
71	2381B 02–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR LPGGGEYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYPPDYSGYYHRPIS

		выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	<p>INYRT-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-</p> <p>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE</p> <p>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV</p> <p>LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK</p> <p>AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG</p> <p>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF</p> <p>FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT</p> <p>QKSLSLSPG</p>
72	2381В 04-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR</p> <p>LPGGGEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA</p> <p>TISGLKPGVDYTTITVYAVEYPYEHSGYYHRPIS</p> <p>INYRT-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-</p> <p>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE</p> <p>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV</p> <p>LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK</p> <p>AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG</p> <p>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF</p> <p>FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT</p> <p>QKSLSLSPG</p>
73	2381В 06-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR</p> <p>LPGGGEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA</p> <p>TISGLKPGVDYTTITVYAVEYPYPHSGYYHRPIS</p> <p>INYRT-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-</p> <p>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE</p> <p>VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV</p> <p>LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK</p> <p>AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG</p> <p>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF</p> <p>FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT</p> <p>QKSLSLSPG</p>



		С-концевой остаток К	
74	2381B 08–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAD GGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEYTFPGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
75	2381 D02–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR LPGGGEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYPYDHSGYYHRPIS INYRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
76	2381 D04–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR LPGGGEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEFPYDHSGYYHRPIS INYRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG

		последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	FYPSTIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
77	2381F I1-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAD GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKSTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEYTFPGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSTIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
78	2381 G03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWEPFSR LPGGGYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEFPYAHSGYYHRPIS INRYRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSTIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
79	2381 G09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAG DGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFTFPGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> -

		<p>группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNYHT QKSLSLSPG</p>
80	<p>2381 H03-Fc слитый белок</p>	<p>X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR LPGGGEYYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYPYAHSGYFHRPIS INYRT-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>- VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNYHT QKSLSLSPG</p>
81	<p>2382 A01 Fc слитый белок</p>	<p>X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWAAPAG GGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISIN YRT-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>- VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNYHT QKSLSLSPG</p>

82	2382B 10-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAD AYGYRITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
83	2382B 09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAD AYGYRITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
84	2382C 05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAD GAYGYRITYGETGGNSPVQEFVPSKGTAT I SGLKPGVDYTTITVYAVEYSFPGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF

		шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
85	2382C 09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAE GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
86	2382 D03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAD EAYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
87	2382 D05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAD GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

		(SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
88	2382 D08-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAD GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFPFPGSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
89	2382 D09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAE GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
	2382F	X1 является	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAG

90	02-Fc слитый белок	необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFDFFPGSGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
91	2382F 03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAA DAYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFNFPAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
92	2382F 05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAA AGKHYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFFGAGYYHRPIS INYRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT

		NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	QKSLSLSPG
93	2382F 08-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAE AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFTYPGSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
94	2382F 09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAA AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTT.PPSRDEI.TKNQVSI.TCT.VKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
95	2382 G04-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAG GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPSSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFDPPGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV



		<p>EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К</p>	<p>LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG</p>
96	<p>2382 H10-Fc слитый белок</p>	<p>X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAG GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATIS GLKPGVDYTIITVYAVEFDYFPGSGYHRPISINY RT-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG</p>
97	<p>2382 H11-Fc слитый белок</p>	<p>X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAD GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVFKGTATIS GLKPGVDYTIITVYAVEFDYFPGSGYHRPISINY RT-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG</p>
98	<p>2382 H04-Fc</p>	<p>X1 является необязательным и, если</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAA GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSSKGTATI</p>

	слитый белок	присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	SGLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKLSLSLSPG
99	2382 H07-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPAD AYGYRITYGETGGNSPVQEF TVPGSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKLSLSLSPG
00	2382 H09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-	GVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPAA AYGYRITYGETGGNSPVQEF TVPSSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKLSLSLSPG

		фрагмент может включать С-концевой остаток К	
01	2451 A02-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAA GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFFPPGSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKLSLSLSPG
02	2451B 05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAG GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDY P GSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKLSLSLSPG
03	2451B 06-Fc слитый белок (эквивалент 2382D05)	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAD GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFDY P GAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

		выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток К	AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
04	2451C 06–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAG AASYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFPFPGAGYYHRPISI NYRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
05	2451 D05–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAG AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEFDFFPGSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
06	2451F 03–Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPPAE GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATIS GLKPGVDYITITVYAVEFNFPFPGSGYYHRPISINY

		выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
07	2451 G01-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAG GYGYRITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFDFFPGSGYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
08	2451 H07-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать	GITDVPRDLEVVAATPTSLLISWNPPDV NYGYRITYGETGGNSPLQEFVPSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPYAHAGYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG

		С-концевой остаток К	
09	2382E 03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAG DGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
10	2382E 04-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAG GGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFTFPAGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
11	2382E 05-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAE GGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG

		последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток К	FYPSTIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPG
12	2382E 09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAE AYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVPSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISIN RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSTIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPG
13	2381 A04-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток К	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPFSR LPGGGEYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYYPFSGYYHRPIS INVRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSTIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPG
14	2381 A08-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAD GGYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVPSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> -

		<p>группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG</p>
15	2381B 10-Fc слитый белок	<p>X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWDAPAG GGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT I SGLKPGVDYTTITVYAVEYNFIGAGYYHRPISIN YRT-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>- VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG</p>
16	2381C 08 Fc слитый белок	<p>X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAAATPTSLIISWDAPAD GAYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT I SGLKPGVDYTTITVYAVEFPYFAGYYHRPISIN YRT-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>- VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG</p>



17	2381 G06-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSEKLD GKARRGYRITYGETGGNSPVQQFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEFPYDHSGYHHRPIS INYRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
18	2381 H01-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSPRDS TGLVRRGYRITYGETGGNSPVQQFTVPGSKGT ATISGLKPGVDYTTITVYAVEYPYDHSGYHHRPI SINYRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
19	2381 H06-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWGDVRT NEARQGYRITYGETGGNSPLQGFTVPGSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYTYEHSGYYHHRPIS INYRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF

		шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
20	2381 H09-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAG GGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATI SGLKPGVDYTTITVYAVEFDVFGAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
21	2382B I1-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAA AYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYDFAGSGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
22	2382B O8-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK	GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAD AYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFAFPGAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPE

		(SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
23	2382C I1-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAG GYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYDFAGSGYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
24	2382 G03-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAE AEAYGYRITYGETGGNSPVQEFVTVVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYVFPAGAGYHRPISI NYRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
	2382	X1 является	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAE

25	H03-Fc слитый белок	необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GAYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEYPPYFAGYYHRPISIN YRT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
26	2451 A10-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать С-концевой остаток К	GVTDVPRDMEVVAATPTSLLISWQPPAVTYGYRITYGETGGNSTLQQFTVPVYKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEYDYDHSYHRPISIN RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
27	2451B 02-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAAYGYRITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISIN RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMEALHNHYT

		NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	QKSLSLSPG
28	2451C H1-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GIQDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPPAG AYGYYRITYGETGGNSPKQQFTVPGYKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPYDHSYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
29	2451 H01-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAA GYGYYRITYGETGGNSPVQEFVTVSKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYDFPGSGYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTT.PPSRDEI.TKNQVSI.TCT.VKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
30	2011B H1-Fc слитый белок	X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и	GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWAPPSPD AYGYYRITYGETGGNSPVQEFVTVPIGKGTATIS GLKPGVDYTTITVYAVEYPYSHAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

		<p>EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К</p>	<p>LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG</p>
31	<p>2971 A03-Fc слитый белок</p>	<p>X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDPPSD DYGYYRITYGETGGNSPVQEFVPIGKGATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINY RT-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG</p>
32	<p>2971 A09-Fc слитый белок</p>	<p>X1 является необязательным и, если присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc- фрагмент может включать С-концевой остаток К</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAD DYGYYRITYGETGGNSPVQEFVPIGKGATIS GLKPGVDYTTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINY RT-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG</p>
33	<p>2971E 02-Fc слитый</p>	<p>X1 является необязательным и, если</p>	<p>GVSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPSD DYGYYRITYGETGGNSPVQEFVPIGKGATIS</p>

	белок	присутствует, может быть выбран из следующей группы: E, EI, EID, EIDK (SEQ ID NO: 384), EIE и EIEK (SEQ ID NO: 635); X2 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; данный Fc-фрагмент может включать C-концевой остаток K	GLKPGVDYTTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINY RT-X <sub>1</sub> -X <sub>2</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG
<b>X<sub>1</sub>-Fc-X<sub>2</sub>-PCSK9 Аднектин N-концевые варианты</b>			
34	Fc- 1459D05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть C-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLSWPPPSHGYYR ITYGETGGNSPVQEFTVPPGKGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEYPYKHSYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
35	Fc- 1784F03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634;	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT

		X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWRPPIHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIVEGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
36	Fc- 1784F03-m1 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAP I HAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSEGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
37	Fc- 1784F03-m2 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPAHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSKGTATISGLKPGV



		С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	DYTTITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
38	Fc- 1784F03-м3 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAVTYGYYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSKSTATISGLKPGV DYTTITVYAVEYTFKHSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
39	Fc- 1813E02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWSPPANGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGVGRGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEYTYKSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>

		последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
40	Fc-1923B02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWTTPPKGYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTVVGEGETATISGLKPGV DYTITVYAVEYTYNGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
41	Fc-1923B02(N82) I) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWTTPPKGYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTVVGEGETATISGLKPGV DYTITVYAVEYTYIGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>

	Fc-	X1 выбирается из	X1-
42	1923B02(N82) E) слитый белок	последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWTPPPKGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGE GTATISGLKPGV DYTITVYAVEYTYEGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
43	1923B02(T80) A) слитый белок	последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWTPPPKGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGE GTATISGLKPGV DYTITVYAVEYAYNGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
44	1922G04 слитый белок	последовательностей шарнирной области SEQ ID	VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

		NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWRPPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFVPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPWKGGSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
45	Fc- 1922G04(R25 D) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDPSPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFVPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPWKGGSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
46	Fc- 1922G04(R25 E) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF

		ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWEPPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPPWKGSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
47	Fc- 1922G04(R25 S) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWSPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPPWKGSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
48	Fc- 2012A04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWRPPSNGHGYR

		присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	ITYGETGGNSPVQEFTVPVNEGTTATISGLKPGV DYTTITVYAVEFPFKWSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
49	Fc- 2013E01 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWVPPSDDYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPIGKGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
50	Fc- 2011H05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью,	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWVPSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGVGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>

		выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
51	Fc-2011H05(V23 D) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPSSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGVGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
52	Fc-2011H05(V23 E) слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK	X1- VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPSSHAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVGVGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYAFEGAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>

		(SEQ ID NO: 635)	
53	Fc- 2381B02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWEPFSRPPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYPYDYSGYHHRPISINRYT- X <sub>3</sub>
54	Fc- 2381B04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWEPFSRPPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYPYEHSGYHHRPISINRYT- X <sub>3</sub>
55	Fc- 2381B06	X1 выбирается из последовательностей	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE



	слитый белок	шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEPPSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYITITVYAVEYYPHSGYYHRPISINYRT- X <sub>3</sub>
56	Fc- 2381B08 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPSSKGTATISGLKPG VDYITITVYAVEYTFPGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
57	Fc- 2381D02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG

		<p>последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)</p>	<p>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X<sub>2</sub>- VSDVPRDLEVVAATPTSLISWEFPSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYPYDHSGYYHRPISINYRT- X<sub>3</sub></p>
58	<p>Fc- 2381D04 слитый белок</p>	<p>X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)</p>	<p>X<sub>1</sub>- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X<sub>2</sub>- VSDVPRDLEVVAATPTSLISWEFPSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEFPYDHSGYYHRPISINYRT- X<sub>3</sub></p>
59	<p>Fc- 2381F11 слитый белок</p>	<p>X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является</p>	<p>X<sub>1</sub>- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X<sub>2</sub>-</p>

		необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKSTATISGLKPG VDYTITVYAVEYTFPGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
60	Fc- 2381G03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWEPF SRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPVSKGTATISGLK PGVDY TITVYAVEFPYAHSGY YHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
61	Fc- 2381G09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFTFPAGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>

		последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
62	Fc- 2381H03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWEFPSRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYPYAHSGYFHRPISINYRT- X <sub>3</sub>
63	Fc- 2382A01 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWAAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>

		ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
64	Fc- 2382B10 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKD <sup>T</sup> LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVY <sup>T</sup> LP <sup>S</sup> SRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYK <sup>T</sup> TP <sup>P</sup> VLDS <sup>D</sup> GSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV <sup>F</sup> SCSV <sup>M</sup> HEALHNHY <sup>T</sup> QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAAT <sup>P</sup> TSLLISWDAPADAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVP <sup>S</sup> SKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISIN <sup>Y</sup> RT-X <sub>3</sub>
65	Fc- 2382B09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKD <sup>T</sup> LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVY <sup>T</sup> LP <sup>S</sup> SRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYK <sup>T</sup> TP <sup>P</sup> VLDS <sup>D</sup> GSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV <sup>F</sup> SCSV <sup>M</sup> HEALHNHY <sup>T</sup> QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAAT <sup>P</sup> TSLLISWDAPADAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVP <sup>S</sup> SKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDY <sup>F</sup> PGSGYYHRPISIN <sup>Y</sup> RT-X <sub>3</sub>
	Fc-	X1 выбирается из	X <sub>1</sub> -

66	2382C05 слитый белок	последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPADGAYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEYSFPGAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
67	Fc- 2382C09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLIISWDAPAEGYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEFDFFPGSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
68	Fc- 2382D03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

		выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG-X <sub>2</sub> -VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPADEAYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFFGAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
69	Fc- 2382D05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG-X <sub>2</sub> -VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPADGGYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFFGAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
70	Fc- 2382D08 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634;	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMEALHNHYT

		X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPADGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPFPGSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
71	Fc- 2382D09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPAEGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDFFPGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
72	Fc- 2382F02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPAGGGYGYR RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPG



		С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VDYTTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINRYRT-X <sub>3</sub>
73	Fc- 2382F03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAADAYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEFNFPAGYYHRPISINRYRT-X <sub>3</sub>
74	Fc- 2382F05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAEAGKHYG YYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINRYRT- X <sub>3</sub>

		последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
75	Fc- 2382F08 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAEAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFTYPGSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
76	Fc- 2382F09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>

77	Fc- 2382G04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLSISWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPG VDYTIITVYAVEFDFPGAGYYHRPISINVRT-X <sub>3</sub>
78	Fc- 2382H10 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLSISWDAPAGGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTIITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINVRT-X <sub>3</sub>
79	Fc- 2382H11 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID	X1- VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

		NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPADGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVFKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
80	Fc- 2382H04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAAGGYGYR RITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
81	Fc- 2382H07 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF

		ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPADAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPGSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
82	Fc- 2382H09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAAAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDFPGSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
83	Fc- 2451A02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAAGYGYR

		присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPFPGSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
84	Fc- 2451B05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
85	Fc- 2451B06 слитый белок (эквивалент 2382D05)	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью,	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDYFPGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>

		выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
86	Fc- 2451C06 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPAGAASYGY YRITYGETGGNSPVQEF T V P V S K G T A T I S G L K P GVDYTITVYAVEFPFPGAGYYHRPISINYRT- X <sub>3</sub>
87	Fc- 2451D05 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK	X1- VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPAGAYGYR ITYGETGGNSPVQEF T V P V S K G T A T I S G L K P G V DYTITVYAVEFD F P G S G Y Y H R P I S I N Y R T - X <sub>3</sub>

		(SEQ ID NO: 635)	
88	Fc- 2451F03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDPPAEGYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFNFPGSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
89	Fc- 2451G01 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFVTPSSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFDFFPGSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
90	Fc- 2451H07	X1 выбирается из последовательностей	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE



	слитый белок	шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - ITDVPRDLEVVAATPTSLLLISWNPPDVNYGYR ITYGETGGNSPLQEFVTPVSKGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEYPYAHAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
91	Fc- 2382E03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAGDGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEFDFFGAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
92	Fc- 2382E04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG

		<p>последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)</p>	<p>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X<sub>2</sub>- VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFTFPAGYHHRPISINYRT-X<sub>3</sub></p>
93	<p>Fc- 2382E05 слитый белок</p>	<p>X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)</p>	<p>X<sub>1</sub>- VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X<sub>2</sub>- VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAEGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPG VDYTITVYAVEFDFFPAGYHHRPISINYRT-X<sub>3</sub></p>
94	<p>Fc- 2382E09 слитый белок</p>	<p>X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является</p>	<p>X<sub>1</sub>- VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X<sub>2</sub>-</p>

		необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPAEAYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
95	Fc- 2381A04 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWEPF SRLPGGGE YYRITYGETGGNSPLQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYPYFPGSGYYHRPISINYRT- X <sub>3</sub>
96	Fc- 2381A08 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPADGGYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPGSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEYDFPGAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>

		последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
97	Fc- 2381B10 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQGNVFSCVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPG VDYTIITVYAVEYNFIGAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
98	Fc- 2381C08 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQGNVFSCVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPADGAYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPG VDYTIITVYAVEFPYFAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>

		ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
99	Fc- 2381G06 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLIWSEKLDGKARRG YYRITYGETGGNSPVQQFTVPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEFPYDHSGYYHRPISINYRT- X <sub>3</sub>
00	Fc- 2381H01 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLIWSPRDSTGLVRR GYYRITYGETGGNSPVQQFTVPGSKGTATISGL KPGVDYTTITVYAVEYFYDHSGYYHRPISINYRT -X <sub>3</sub>
	Fc-	X1 выбирается из	X <sub>1</sub> -

01	2381H06 слитый белок	последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VFLFPPKPKDITLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLSISWGDVRTNEARQG YYRITYGETGGNSPLQGFVTPGSKGTATISGLK PGVDYTTITVYAVEYTYEHSYHHRPISINYRT- X <sub>3</sub>
02	Fc- 2381H09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCVMHEALHNYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLSISWDAPAGGGYGY RITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPG VDYTTITVYAVEFDFVAGYHHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
03	Fc- 2382B11 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDITLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

		выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG-X <sub>2</sub> -VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPAAAYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEYDFAGSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
04	Fc-2382B08 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG-X <sub>2</sub> -VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDAPADAYGYRITYGETGGNSPVQEFTVPSSKGTATISGLKPGVDYTTITVYAVEFAFPGAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
05	Fc-2382C11 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634;	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT

		X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPAGGYGYR ITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFAGSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
06	2382G03 Fc- слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPAEAEAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKP GVDYTITVYAVEYVFPAGYYHRPISINYRT- X <sub>3</sub>
07	2382H03 Fc- слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDAPAEAGAYGY RITYGETGGNSPVQEFTVPVSKGTATISGLKPG



		С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	VDYTTITVYAVEYPYPFAGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
08	Fc- 2451A10 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VTDVPRDMEVVAATPTSLLLISWQPPAVTYGYYR ITYGETGGNSTLQQFTVPVYKGTATISGLKPGV VDYTTITVYAVEYPYDHSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>
09	Fc- 2451B02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPAAAYGYYR ITYGETGGNSPVQEFVTPVSKGTATISGLKPGV VDYTTITVYAVEFDYPGSGYYHRPISINYRT-X <sub>3</sub>

		последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	
10	Fc- 2451C11 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - IVDVPRDLEVVAATPTSLLISWDPPAGAYGYR ITYGETGGNSPKQQFTVPGYKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYDHSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
11	Fc- 2451H01 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAAGYGYR ITYGETGGNSPVQEFVPSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYDFPGSGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>

12	Fc- 2011B11 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWAPPSDAYGYR ITYGETGGNSPVQEFVPIGKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEYPYSHAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
13	Fc- 2971A03 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X1- VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYT QKLSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLISWDPPSDDYGYR ITYGETGGNSPVQEFVPIGKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
14	Fc- 2971A09 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID	X1- VFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

		NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPADDYGYR ITYGETGGNSPVQEFVPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>
15	Fc- 2971E02 слитый белок	X1 выбирается из последовательностей шарнирной области SEQ ID NO: 317-321; X2 выбирается из линкерных последовательностей SEQ ID NO: 310-314 и 620-634; X3 является необязательным и, если присутствует, может быть С-концевой «хвостовой» последовательностью, выбранной из последовательностей SEQ ID NO: 380-395 и EIEK (SEQ ID NO: 635)	X <sub>1</sub> - VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYT QKSLSLSPG-X <sub>2</sub> - VSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWDAPSDDYGYR ITYGETGGNSPVQEFVPIGKTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPWPHAGYYHRPISINRYT-X <sub>3</sub>

В некоторых вариантах исполнения анти-PCSK9 Аднектин содержит домен Fn3 и РК-группу. В некоторых вариантах исполнения доменом Fn3 является домен <sup>10</sup>F<sub>n3</sub>. В некоторых вариантах исполнения РК-группа увеличивает время полужизни пептида в сыворотке более чем на 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 150, 200, 400, 600, 800, 1000% или более относительно домена Fn3 без РК-группы.

В некоторых вариантах исполнения РК-группой является полимерный сахар. В некоторых вариантах исполнения РК-группой является полиэтиленгликоль. В некоторых вариантах исполнения РК-группой является сывороточный альбумин человека. В некоторых вариантах исполнения РК-группой является сывороточный иммуноглобулин-связывающий белок. В некоторых вариантах исполнения РК-группой является трансферрин.

В некоторых вариантах исполнения РК-группой является другой Аднектин, специфичный к сывороточному белку, например к HSA. В настоящей заявке описываются специфические связывающие сывороточный альбумин молекулы Аднектина (или SABA). В определенных вариантах исполнения последовательность слитого белка PCSK9 Аднектина с SABA может быть в общем виде представлена как X<sub>1</sub>-коровая часть PCSK9 Аднектина-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-коровая часть SABA-X<sub>5</sub> (SEQ ID NO: 618) или X<sub>1</sub>-коровая часть SABA-X<sub>2</sub>-X<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-коровая часть PCSK9 Аднектина-X<sub>5</sub> (SEQ ID NO: 619), где X<sub>1</sub> и X<sub>4</sub> представляют собой необязательные N-концевые удлинения, X<sub>2</sub> и X<sub>5</sub> представляют собой необязательные С-концевые удлинения, X<sub>3</sub> представляет собой линкер. В одном из вариантов исполнения Аднектины (либо PCSK9, либо связывающие сывороточный альбумин) последовательностей SEQ ID NO: 618 и 619 включают коровую область Аднектина, т.е. коровая последовательность PCSK9 Аднектина может быть любой из последовательностей PCSK9 Аднектинов, представленных в табл. 4, в которой данные последовательности начинаются с аминокислотного остатка, соответствующего остатку E8 последовательности SEQ ID NO: 1 и заканчиваются аминокислотным остатком, соответствующим остатку T94 последовательности SEQ ID NO: 1. Коровая последовательность SABA может быть выбрана из любой из коровых последовательно-

стей SABA, представленных в табл. 6.

В некоторых вариантах исполнения  $X_1$  и  $X_4$  являются независимо необязательными и в случае присутствия являются независимо выбранными из последовательностей SEQ ID NO: 371-379, приведенных в табл. 6. Данные последовательности могут содержать M, G или MG последовательность на N-конце, если такие аминокислотные остатки не включены в последовательность. Для экспрессии в клетках млекопитающих слитые белки могут также содержать на N-конце лидерную сигнальную последовательность, такую как METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO: 326). В некоторых вариантах исполнения  $X_2$  и  $X_5$  являются независимо необязательными и в случае присутствия являются независимо выбранными из последовательностей SEQ ID NO: 380-395, приведенных в табл. 6. В определенных вариантах исполнения  $X_3$  представляет собой линкерную последовательность, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 396-419, приведенных в табл. 6. Последовательности в табл. 2 представляют собой примеры слитых белков анти-PCSK9 и SABA. Следует понимать, что любая последовательность PCSK9 Аднектина и SABA, описанная в данной заявке, может быть включена в состав таких слитых белков.

Таблица 2. Примеры последовательностей слитого белка PCSK9 Аднектин-SABA

EQ ID	Клон или название	Описание	Последовательность
16	PCSK9 Аднектин-SABA слитый белок	Последовательность PCSK9 Аднектина подчеркнута; последовательность SABA выделена жирным шрифтом. Последовательность PCSK9 Аднектина представляет собой коровую область от клона 2013E01; последовательность SABA взята из SABA 1 (SEQ ID NO: 330)	$X_1$ - <u>EVVAATPTSLLLISWVPPSDDYGYRITY</u> <u>GETGGNSPVQEF</u> <u>TVPIGKTATISGLKP</u> <u>GVDYTI</u> <u>TVYAVEFPWP</u> <u>HAGYYHRPISIN</u> <u>YRT</u> - $X_2$ - $X_3$ - $X_4$ - <b>EVVAATPTSLLLISWHSYEQNSYYRITY</b> <b>GETGGNSPVQEF</b> <b>TVPYSQTTATISGLKP</b> <b>GVDYTI</b> <b>TVYAVY</b> <b>GSKYYYYPISIN</b> <b>YRT</b> - $X_5$
17	SABA-PCSK9 Аднектин слитый белок	Последовательность SABA выделена жирным шрифтом, последовательность PCSK9 Аднектина подчеркнута. Последовательность SABA взята из SABA 1 (SEQ ID NO: 330); последовательность PCSK9 Аднектина представляет собой коровую область от клона 2013E01	$X_1$ - <b>EVVAATPTSLLLISWHSYEQNSYYRITY</b> <b>GETGGNSPVQEF</b> <b>TVPYSQTTATISGLKP</b> <b>GVDYTI</b> <b>TVYAVY</b> <b>GSKYYYYPISIN</b> <b>YRT</b> - $X_2$ - $X_3$ - $X_4$ - <u>EVVAATPTSLLLISWVPPSDDYGYRITY</u> <u>GETGGNSPVQEF</u> <u>TVPIGKTATISGLKP</u> <u>GVDYTI</u> <u>TVYAVEFPWP</u> <u>HAGYYHRPISIN</u> <u>YRT</u> - $X_5$

Биофизическая и биохимическая характеристика.

Данная заявка описывает Аднектин, содержащий домен Fn3, связывающий PCSK9. Связывание полипептида с целевой молекулой может быть оценено с помощью констант равновесия (например, константы диссоциации,  $K_D$ ) и кинетических констант (например, константы скоростей прямой и обратной реакций,  $K_{on}$  и  $K_{off}$  соответственно). Аднектин, как правило, связывается с целевой молекулой с  $K_D$  менее чем 500, 100, 10, 1 нМ, 500, 200, 100 пМ. Однако более высокая  $K_D$  может быть приемлема в случае, когда достаточно низка  $K_{off}$  или достаточно высока  $K_{on}$ .

Последовательности петель BC, DE и FG анти-PCSK9 Аднектинов (SEQ ID NO), описанных в настоящем изобретении, представлены в табл. 3.

Таблица 3. Петли BC, DE и FG анти-PCSK9 Аднектинов

ID клона	<u>Аффи</u> нность (K <sub>D</sub> , нМ)	<u>PC</u> SK9- EGFA FRET (EC <sub>50</sub> , нМ)	<u>Снижен</u> ие количества LDLR (%) ингибирования при 75нМ, EC <sub>50</sub> (нМ)	Петля BC	SE Q ID NO	Петл я DE	SEQ ID NO	Петля FG	SEQ ID NO
1459D05	14.4† 1.58* 26^	4	66.8, >200	SWPPPSH GYG	2	PPG KGT	18	EYPYKHSY YHRP	28
1784F03	3.8^	2	150.2, 26±13	SWRPPIH AYG	3	PIV EGT	19	EYTFKHSY YHRP	29
1784F03 -m1	нд	нд	нд, >2000	SWDAPIH AYG	4	PGS EGT	20	EYTFKHSY YHRP	29
1784F03 -m2	нд	нд	нд, >2000	SWDAPAH AYG	5	PGS KGT	21	EYTFKHSY YHRP	29
1784F03 -m3	нд	нд	нд, >2000	SWDAPAV TYG	6	PGS KST	22	EYTFKHSY YHRP	29
1813E02	<2^	1.3	нд,16	SWSPPAN GYG	7	PVG RGT	23	EYTYKGSY YHRP	30
1923B02	0.173*	2.3	178.0, 23±7	SWTPPPK GYG	8	PVG EGT	24	EYTYNGAGY YHRP	31
1923B02 (N82I)	нд	нд	нд, 14	SWTPPPK GYG	8	PVG EGT	24	EYTYGAGY YHRP	32
1923B02 (N82E)	нд	нд	нд, 28	SWTPPPK GYG	8	PVG EGT	24	EYTYEGAGY YHRP	33
1923B02 (T80A)	нд	нд	нд, 42	SWTPPPK GYG	8	PVG EGT	24	EYAYNGAGY YHRP	34
1922G04	0.09*	1.2	105.1, 10±2	SWRPPSH AYG	9	PIG KGT	25	EYPWKGSY YHRP	35
1922G04 (R25D)	нд	2.5	нд, 29±8	SWDPPSH AYG	10	PIG KGT	25	EYPWKGSY YHRP	35
1922G04 (R25E)	нд	3.5	нд, 29±18	SWEPSSH AYG	11	PIG KGT	25	EYPWKGSY YHRP	35
1922G04 (R25S)	нд	нд	нд, 21	SWSPSSH AYG	12	PIG KGT	25	EYPWKGSY YHRP	35
2012A04	0.25*	2.1	144.5, 12±6	SWRPPSN GHG	13	PVN EGT	26	EFPPKWSY YHRP	36
2013E01	1.51† 0.29*	1.6	165.5, 10±4	SWVPPSD DYG	14	PIG KGT	25	EFPPWHAGY YHRP	37
2011H05	0.08*	2.7	197.6, 12±5	SWVPPSH AYG	15	PVG VGT	27	EYAFEGAGY YHRP	38
2011H05 (V23D)	нд	5.5	нд, 18±3	SWDPPSH AYG	16	PVG VGT	27	EYAFEGAGY YHRP	38
2011H05 (V23E)	нд	7.4	нд, 12±3	SWEPSSH AYG	17	PVG VGT	27	EYAFEGAGY YHRP	38
2381B02 (I)	3.29†	2.5	125.4, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPYDYSY YHRP	142
2381B04 (I)	0.527†	2.4	121.6, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPYHSY YHRP	143
2381B06 (I)	нд	3.5	119.7, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPYHSY YHRP	144
2381B08	4.11†	2.6	124.8, нд	SWDAPAD GGYG	10 7	PSS KGT	136	EYTFPGAGY YHRP	145

## 036055

2381D02 (1)	нд	3.1	185.0, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPYDHSY YHRP	146
2381D04 (1)	0.237†	2.9	119.2, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EPFYDHSY YHRP	147
2381F11	1.59†	4	110.2, нд	SWDAPAD GGYG	10 7	PVS KST	137	EYTFPGAGY YHRP	145
2381G03 (1)	нд	3.4	70.2, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EPFYAHSY YHRP	148
2381G09	1.12†	3.1	133.0, нд	SWDAPAG DGYG	10 8	PVS KGT	138	EFTFPAGY YHRP	149
2381H03 (1)	нд	3.4	89.8, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPYAHSY FHRP	150
2382A01	нд	12. 9	119.8, нд	SWAAPAG GGYG	10 9	PVS KGT	138	EYDFPGAGY YHRP	151
2382B10	2.35†	3	100.2, нд	SWDAPAD AYG	11 0	PSS KGT	136	EYDFPGSGY YHRP	152
2382B09	0.656†	3.8	105.0, нд	SWDAPAD AYG	11 0	PVS KGT	138	EFDYPGSGY YHRP	153
2382C05	2.49†	4	105.3, нд	SWDAPAD GAYG	11 1	PVS KGT	138	EYSFPAGY YHRP	154
2382C09	0.757†	3.5	121.7, нд	SWDAPAE GYG	11 2	PVS KGT	138	EFDFPGSGY YHRP	155
2382D03	1.53†	3.3	80.4, нд	SWDAPAD EAYG	11 3	PVS KGT	138	EFDFPGAGY YHRP	156
2382D05	0.314†	2.6	140.5, нд	SWDAPAD GGYG	10 7	PVS KGT	138	EFDFPGAGY YHRP	156
2382D08	нд	3.1	106.6, нд	SWDAPAD GYG	11 4	PVS KGT	138	EFDFPGSGY YHRP	157
2382D09	0.304†	2.6	109.1, нд	SWDAPAE GYG	11 2	PVS KGT	138	EFDFPGAGY YHRP	156
2382F02	нд	2.6	-6.3, нд	SWDAPAG GGYG	11 5	PVS KGT	138	EFDFPGSGY YHRP	155
2382F03	нд	2.7	88.6, нд	SWDAPAA DAYG	11 6	PVS KGT	138	EFNFPGAGY YHRP	158
2382F05	4.54†	2.4	72.2, нд	SWDAPAE AGKHYG	11 7	PVS KGT	138	EFDFPGAGY YHRP	156
2382F08	нд	2.5	105.0, нд	SWDAPAE AYG	11 8	PVS KGT	138	EFTYPGSGY YHRP	159
2382F09	нд	3.1	109.7, нд	SWDAPAA AYG	11 9	PVS KGT	138	EYDFPGSGY YHRP	152
2382G04	1.11†	2.9	146.1, нд	SWDAPAG GGYG	11 5	PSS KGT	136	EFDFPGAGY YHRP	156
2382H10	1.40†	2.6	118.6, нд	SWDAPAG GYG	12 0	PVS KGT	138	EFDFPGSGY YHRP	155
2382H11	нд	2.9	117.2, нд	SWDAPAD GYG	11 4	PVF KGT	139	EFDYPGSGY YHRP	153
2382H04	нд	3.2	68.2, нд	SWDAPAA GGYG	12 1	PSS KGT	136	EYDFPGAGY YHRP	151

## 036055

2382H07	нд	2.7	86.2, нд	SWDAPAD AYG	11 0	PGS KGT	21	EFDFPGSGY YHRP	155
2382H09	1.86†	0.9	101.2, нд	SWDAPAA AYG	11 9	PSS KGT	136	EFDFPGSGY YHRP	155
2451A02	нд	3.2	106.4, нд	SWDAPAA GYG	12 2	PVS KGT	138	EFDFPGSGY YHRP	157
2451B05	нд	6.3	91.7, нд	SWDAPAG GYG	12 0	PSS KGT	136	EFDFPGSGY YHRP	153
2451B06	нд	4.5	92.2, нд	SWDAPAD GGYG	10 7	PVS KGT	138	EFDFPGAGY YHRP	156
2451C06	1.27†	1.2	89.4, нд	SWDAPAG AASYG	12 3	PVS KGT	138	EFDFPGAGY YHRP	160
2451D05	нд	2.8	115.0, нд	SWDAPAG AYG	12 4	PVS KGT	138	EFDFPGSGY YHRP	155
2451F03	нд	2.8	113.2, нд	SWDPPAE GYG	12 5	PVS KGT	138	EFDFPGSGY YHRP	161
2451G01	нд	3.8	90.8, нд	SWDAPAG GYG	12 0	PSS KGT	136	EFDFPGSGY YHRP	155
2451H07 (2)	2.08†	0.2	88.8, нд	SWNPPDV NYG	12 6	PVS KGT	138	EYPYAHAGY YHRP	162
2382E03	2.94†	2.4	89.5, нд	SWDAPAG DGYG	10 8	PVS KGT	138	EFDFPGAGY YHRP	156
2382E04	нд	3	61.5, нд	SWDAPAG GGYG	11 5	PVS KGT	138	EFTFPAGY YHRP	149
2382E05	0.604†	2.8	103.5, нд	SWDAPAE GGYG	12 7	PVS KGT	138	EFDFPGAGY YHRP	156
2382E09	нд	6.2	97.2, нд	SWDAPAE AYG	11 8	PVS KGT	138	EYDFPGSGY YHRP	152
2381A04 (1)	нд	3.3	100.1, нд	SWEPFSR LPGGGE	10 6	PGS KGT	21	EYPYFSGY YHRP	163
2381A08	нд	3.6	91.4, нд	SWDAPAD GGYG	10 7	PGS KGT	21	EYDFPGAGY YHRP	151
2381B10	нд	7.3	96.4, нд	SWDAPAG GGYG	11 5	PVS KGT	138	EYNFIGAGY YHRP	164
2381C08	нд	0.7	15.3, нд	SWDAPAD GAYG	11 1	PVS KGT	138	EFYFAGY YHRP	165
2381G06 (3)	нд	9	57.7, нд	SWSEKLD GKARRG	12 8	PGS KGT	21	EFYDHSY YHRP	147
2381H01 (3)	нд	4	22.2, нд	SWSPRDS TGLVRRG	12 9	PGS KGT	21	EYPYDHSY YHRP	146
2381H06 (4)	нд	5	53.4, нд	SWGDVRT NEARQG	13 0	PGS KGT	21	EYTYEHSY YHRP	166
2381H09	3.23†	3.4	94.4, нд	SWDAPAG GGYG	11 5	PVS KGT	138	EFDFVAGY YHRP	167
2382B11	нд	2.9	88.8, нд	SWDAPAA AYG	11 9	PVS KGT	138	EYDFAGSY YHRP	168
2382B08	нд	2.9	107.2, нд	SWDAPAD AYG	11 0	PSS KGT	136	EFDFVAGY YHRP	169



2382C11	нд	3.7	82.9, нд	SWDAPAG GYG	12 0	PVS KGT	138	EYDFAGSGY YHRP	168
2382G03	нд	2.7	77.8, нд	SWDAPAE AEAYG	13 1	PVS KGT	138	EYVFPAGY YHRP	170
2382H03	0.677†	3.4	102.1, нд	SWDAPAE GAYG	13 2	PVS KGT	138	EYPYPFAGY YHRP	171
2451A10 (5)	нд 9	10.	53.7, нд	SWQPPAV TYG	13 3	PVY KGT	140	EYPYDHSY YHRP	146
2451B02	нд	5.3	71.4, нд	SWDAPAA AYG	11 9	PVS KGT	138	EFDYPGSGY YHRP	153
2451C11 (6)	нд	9.7	70.3, нд	SWDPPAG AYG	13 4	PGY KGT	141	EYPYDHSY YHRP	146
2451H01	нд	2.8	95.8, нд	SWDAPAA GYG	12 2	PVS KGT	138	EYDFPGSGY YHRP	152
2011B11	нд	1.7	144.5, нд	SWAPPSD AYG	13 5	PIG KGT	25	EYPYSHAGY YHRP	172
2971A03	0.806†	нд	120.1, нд	SWDPPSD DYG	30 1	PIG KGT	25	EFPWPHAGY YHRP	37
2971A09	2.79†	нд	132.3, нд	SWDAPAD DYG	30 2	PIG KGT	25	EFPWPHAGY YHRP	37
2971E02	1.78†	нд	126.2, нд	SWDAPSD DYG	30 3	PIG KGT	25	EFPWPHAGY YHRP	37

†K<sub>D</sub> определены с использованием Octet Red при 37°C; \* K<sub>D</sub> определены с использованием ProteOn при 25°C; ^ K<sub>D</sub> определены с использованием ИТС при 37°C; (1) в дополнение к мутациям в петлях данные клоны также содержат мутации V45L и E47Q; (2) в дополнение к мутациям в петлях данные клоны также содержат мутации V1I, S2T и V45L; (3) в дополнение к мутациям в петлях данные клоны также содержат мутацию E47Q; (4) в дополнение к мутациям в петлях данные клоны также содержат мутации V45L и E47G; (5) В дополнение к мутациям в петлях данные клоны также содержат мутации S2T, L8M, P44T, V45L и E47Q; (6) в дополнение к мутациям в петлях данные клоны также содержат мутации V1I, S2V, V45K и E47Q.

SEQ ID NO последовательностей семейства анти-PCSK9 Аднектинов, описываемых в настоящем изобретении, представлены в табл. 4

Таблица 4. Семейство Аднектинов анти-PCSK9

Клон	Последовательность	
	Аминокислотная	Нуклеотидная
1459D05 также обозначенный как АТ1000891 или АТ1-891	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLSISWPPSHGYGYRITY GETGGNSPVQEFVPPGKGTAT ISGLKPGVDYTTIVYAVEYPIYK HSGYYHRPISINRYRTEIDKPSQ NNNNNN (SEQ ID NO:39)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGCCGCGCCGCTCATGGTTACGGTTATACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCGCTGGTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCCGTACAAACATTTCTGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:40)
1784F03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLSISWRPPIHAYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIVEGTAT ISGLKPGVDYTTIVYAVEYTFK HSGYYHRPISINRYRTEIDKPSQ NNNNNN (SEQ ID NO:41)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGAGGCGCCGATTTCATGCTTACGGTTATACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCATTGTTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATATACATTTAAACATTCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:42)
1784F03- ml	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLSISWDAPIHAYGYRITY GETGGNSPVQEFVPGSEGTAT ISGLKPGVDYTTIVYAVEYTFK HSGYYHRPISINRYRTEIDKPSQ NNNNNN (SEQ ID NO:43)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGATTTCATGCTTACGGTTATACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCCTGGTTCTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATATACATTTAAACATTCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:44)

1784F03- m2	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAHAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVGSKTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYTFK HSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:45)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTCATGCTTACGGGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATATACATTTAAACATTCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:46)
1784F03- m3	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAVTYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVGSKTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYTFK HSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:47)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGTTACTTACGGGTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCTGGTTCTAAATCTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATATACATTTAAACATTCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:48)
1813E02	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWSPANGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVGRGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYTYK GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:49)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGTCCCCACCGGCTAACGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCTGTTGGTAGAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACACGTACACAAAGGCTCTGGTTACTACCATCGC CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:50)
1923B02	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWTPPKGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVGEGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYTYN GAGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:51)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGACGCTCCCCCTAAAGGGTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCTGTTGGTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACACGTACACAAAGGCTCTGGTTACTACCACCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:52)
1923B02( N82I)	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWTPPKGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVGEGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYTYI GAGYYHRPISINRYTGS SHHH HHH (SEQ ID NO:53)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGACGCTCCCCCTAAAGGGTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCTGTTGGTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACACGTACATTGGTCCCGGTTACTACCACCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:54)
1923B02( N82E)	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWTPPKGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVGEGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYTYE GAGYYHRPISINRYTGS SHHH HHH (SEQ ID NO:55)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGACGCTCCCCCTAAAGGGTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCTGTTGGTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACACGTACGAAAGGTGCGGTTACTACCACCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:56)
1923B02( T80A)	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWTPPKGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVGEGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYAYN GAGYYHRPISINRYTGS SHHH HHH (SEQ ID NO:57)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGACGCTCCCCCTAAAGGGTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCTGTTGGTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCGGTACACCGGTTACTACCACCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:58)
1922G04 также обозначенный здесь как ATI001057 или ATI-1057	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWRPSSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVIGKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYPWK GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:59)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGCGCCGCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCTTATGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCGGTGGAAGGTTCTGGTTACTACCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:60)
1922G04( R25D)	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDPPSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVIGKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYPWK GSGYYHRPISINRYTGS SHHH HHH (SEQ ID NO:61)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCCGCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCTTATGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCGGTGGAAGGTTCTGGTTACTACCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:62)

1922G04(R25E)	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWEPESHAYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIGKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYPWK GSGYYHRPISINRYRTGSGSHHH HHH (SEQ ID NO:63)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAACCGCATCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCGTGGAAGGTTCTGGTTACTACCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:64)
1922G04(R25S)	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWPPSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIGKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYPWK GSGYYHRPISINRYRTGSGSHHH HHH (SEQ ID NO:65)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGAGCCCGCATCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCGTGGAAGGTTCTGGTTACTACCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:66)
2012A04	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWRPPSNHGYRITY GETGGNSPVQEFVPIVNEGAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFPFK WSGYHRPISINRYRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:67)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGCGGCCCCCTTAATGGTCACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTAATGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATCCCTTCAAGTGGTCGGGTACTACCATCGA CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:68)
2013E01 также обозначенный как АТИ001081 или АТИ-1081	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWPPSDDYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIGKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFPFP HAGYYHRPISINRYRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:69)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGTCCCGCCTTCAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGTAAAGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGAGTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:70)
2011H05 также обозначенный как АТИ001091 или АТИ-1091	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWPPSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIVGVGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYAFE GAGYYHRPISINRYRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:71)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGTCCCGTCTCATGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:72)
2011H05(V23D)	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWPPSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIVGVGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYAFE GAGYYHRPISINRYRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:73)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCCGTCGTCTCATGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:74)
2011H05(V23E)	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWEPSSHAYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIVGVGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYAFE GAGYYHRPISINRYRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:75)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAACCGTCGTCTCATGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:76)
2381B02	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWEPFRLPGGGEYYR ITYGETGGNSPLQQTVPVPGSKG TATISGLKPGVDYTTITVYAVEY PYDYSGYHRPISINRYRTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:173)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACGCGGTTGCCCGGGGGCGGAGTATTACGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCCTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCGTACGACTATCTGGTTAC TACCATCGCCCATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:174)
2381B04	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWEPFRLPGGGEYYR ITYGETGGNSPLQQTVPVPGSKG TATISGLKPGVDYTTITVYAVEY PYEHSYHRPISINRYRTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:175)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACGCGGTTGCCCGGGGGCGGAGTATTACGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCCTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGGAATACCCGTACGACTATCTGGTTAC TATCATCGTCCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:175)

2381B06	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWEPFRLPGGGEYYR ITYGETGGNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYITITVYAVEY PYPHSGYYHRPISINYRTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:177)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACAGCCGTTGCCCGGGGGCGGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCGAATACCCGTACCCGCATTCTGGTTAC TACCATCGACCGATTTCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:178)
2381B08	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPADGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPSSKGT TISGLKPGVDYITITVYAVEYTF PGAGYHRPISINYRTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:179)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCTCCGGCTGATGGAGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCGAATACACCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:180)
2381D02	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWEPFRLPGGGEYYR ITYGETGGNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYITITVYAVEY PYDHSYHRPISINYRTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:181)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACAGCCGTTGCCCGGGGGCGGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCGAATACCCGTACGACCATTTCTGGTTAC TACCATCGTCCATTTCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:182)
2381D04	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWEPFRLPGGGEYYR ITYGETGGNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYITITVYAVEF PYDHSYHRPISINYRTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:183)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACAGCCGTTGCCCGGGGGCGGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCGAATACCCGTACGACCATTTCTGGTTAC TACCATCGGCCATTTCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:184)
2381F11	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPADGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKSTA TISGLKPGVDYITITVYAVEYTF PGAGYHRPISINYRTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:185)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCTCCGGCTGACGGGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCGAATACACCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:186)
2381G03	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWEPFRLPGGGEYYR ITYGETGGNSPLQQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYITITVYAVEF PYAHSYHRPISINYRTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:187)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACAGCCGTTGCCCGGGGGCGGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTCGAATACCCGTACGCGCATTTCTGGTTAC TACCATCGTCCGATTTCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:188)

2381G09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAGDGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFTF PGAGYYHRPISINYRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:189)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGACGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCCGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCACCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:190)
2381H03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWEPFRLPGGGEYR ITYGETGGNSPLQQTVPVSKG TATISGLKPGVDYITITVYAVEY PYAHSGYFHRPISINYRTEIDK PSQHFFFFFF (SEQ ID NO:191)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCAGCCGTTGCCCGGGGGCGGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCAGTGTGCCCGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCACCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT TTCCATCGTCCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCAC CCAC (SEQ ID NO:192)
2382A01	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWAAPAGGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEYDF PGAGYYHRPISINYRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:193)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGCGCTCCGGCTGGTGGTGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCCGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCAGCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:194)
2382B10	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPADAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEYDFP GSGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHFFFFFF (SEQ ID NO:195)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATAAGCTGGGACGCTCCGGCTGACCGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCCGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCAGCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:196)
2382B09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPADAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEYDFP GSGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHFFFFFF (SEQ ID NO:197)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACCGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCCGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCAGCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:198)
2382C05	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPADAGAYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEYSF PGAGYYHRPISINYRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:199)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGGCATACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCCGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCAGCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:200)

2382C09	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAEYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFDFP GSGYYHRPISINRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:201)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:202)
2382D03	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAEAYGYRIT YGETGGNSPVQEFVVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFDF PGAGYYHRPISINRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:203)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGAGGCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGTGTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:204)
2382D05	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPADGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFVVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFDF PGAGYYHRPISINRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:205)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGTGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:206)
2382D08	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPADGYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFDFP GSGYYHRPISINRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:207)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:208)
2382D09	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAEYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFDFP GAGYYHRPISINRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:209)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCGCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:210)
2382F02	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAGGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFVVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFDF PGSGYYHRPISINRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:211)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGCGGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:212)
2382F03	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPADAYGYRIT YGETGGNSPVQEFVVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFNF PGAGYYHRPISINRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:213)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCCGATGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:214)
2382F05	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAEAGKHYYR ITYGETGGNSPVQEFVVPVSKG TATISGLKPGVDYITITVYAVEF DFPGAGYYHRPISINRTEIDK PSQHFFFFFF (SEQ ID NO:215)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGCAGGTAAGCACTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCGCCGGTTAC TACCATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:216)
2382F08	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAEAYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFTYP GSGYYHRPISINRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:217)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGCATAAGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCTGTTTCTAAAGGTACAGTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCACCTACCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:218)

2382F09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAAAYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYDFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:219)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCAGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:220)
2382G04	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAGGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFVVPSSKGTAT TISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFP PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHHHHHH (SEQ ID NO:221)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGTGGGGATACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGGCGCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:222)
2382H10	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAGGYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:223)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:224)
2382H11	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPADGYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFDYD GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:225)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTTTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:226)
2382H04	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAAAGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFVVPSSKGTAT TISGLKPGVDYTTITVYAVEYDFP PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHHHHHH (SEQ ID NO:227)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCCGGGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTATATGCTGTGCAATACGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:228)
2382H07	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPADAYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:229)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:230)
2382H09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAAAYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:231)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCCGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGC CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:232)
2451A02	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAAAGGYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFDFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:233)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCCGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:234)
2451B05	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAGGYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFDYD GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:235)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:236)

2451B06 (эквивалент 2382D05)	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPADGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFDF PGAGYYHRPISINYRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:205)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGTGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:206)
2451C06	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAGAASYGYRRI TYGETGGNSPVQEFTVPVSKGT ATISGLKPGVDYITITVYAVEFP FPAGYYHRPISINYRTEIDKP SQFFFFFF (SEQ ID NO:237)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGCAGCGTCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGG AGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTT AACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTTCCCTTCCCGGGCGCGGTTACTAC CATCGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCA C (SEQ ID NO:238)
2451D05	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAGAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFDFP GSGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHFFFFFF (SEQ ID NO:239)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGCGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:240)
2451F03	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDPPAEGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFNFP GSGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHFFFFFF (SEQ ID NO:241)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCTCCGGCTGAAGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:242)
2451G01	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAGGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEFDFP GSGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHFFFFFF (SEQ ID NO:243)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:244)
2451H07	MGITDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWNPPDNYGYRITY GETGGNSPLQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITITVYAVEYPYA HAGYYHRPISINYRTEIDKPSQ HHFFFFFF (SEQ ID NO:245)	ATGGGTATCAGGATGTGCCGCGAGACTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGAACCCGCGGATGTAATTACGGTTATTATCGCATCACTTACGGGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTTTCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATATCCGTACGCGCACGCTGGTTACTACCATCGT CCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:246)
2382E03	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAGDGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFDF PGAGYYHRPISINYRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:247)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGACGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:248)
2382E04	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAGGCGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFTF PGAGYYHRPISINYRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:249)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCTGCTGGATACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCACCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:250)
2382E05	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAEAGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITITVYAVEFDF PGAGYYHRPISINYRTEIDKPS QHFFFFFF (SEQ ID NO:251)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGGCGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:252)



2382E09	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLISWDAPAEAYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYDFP GSGYYHRPISINRYTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:253)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:254)
2381A04	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLISWEFFSRLPGGGEYYR ITYGETGGNSPLQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYTTITVYAVEY PYPFSGYYHRPISINRYTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:255)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGAGCCGTTACAGCCGTTGCCCGGGGGCGGCGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTGCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCGTACCCTTTTCTGGTTAC TACCATCGTCCCATTTCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:256)
2381A08	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLISWDAPADGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFVVPVSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYDF PGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:257)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGGCGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGACTTCCCGGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:258)
2381B10	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLISWDAPADGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFVVPVSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEYDF IGAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:259)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGGGGTGGATACGGTTATTACCGSATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACAACTTCATCGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:260)
2381C08	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLISWDAPADGAYGYRIT YGETGGNSPVQEFVVPVSKGTA TISGLKPGVDYTTITVYAVEFPY PFAGYYHRPISINRYTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:261)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGACGGTGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCCCTACCCTTCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:262)
2381G06	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLISWSEKLDGKARRGYR ITYGETGGNSPVQFTVPGSKG TATISGLKPGVDYTTITVYAVEF PYDHSYYHRPISINRYTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:263)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGTGGGAGAAGTTGGACGGGAAGGCGCGCGGGTATTACCGCATCACATACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTGTCCAGCAGTTCACTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCCCGTACGACCATTTCTGGTTAC TACCATCGTCCCATTTCATTAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCA CCAC (SEQ ID NO:264)

2381H01	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWSPRSTGLVRRGY RITYGETGGNSPVQFTVPVPSK GTATISGLKPGVDYITIVYAVE YPYDHSGYHRPISINYRTEID KPSQHSHHHH (SEQ ID NO:265)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGAGCCCGGGGACTCCACCGGCTTGGTGAGGCGGGGATTACCAGCATCACTTACGGCGA AACAGGAGGCAATAGCCCTGTTACAGCAGTTCAGTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCG GCCTTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCCGTACGACCATTCTGGT TACTACCATCGGCCATTTCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCA CCACCAC (SEQ ID NO:266)
2381H06	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWGDVRTNEARQGYR ITYGETGGNSPLQGFVPGSKG TATISGLKPGVDYITIVYAVEY TYEHSGYHRPISINYRTEIDK PSQHSHHHH (SEQ ID NO:267)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGGCAGCTCCGGCAGAACGAGGCGGGCAGGGCTATTACCAGCATCACTTACGGCGAAAC AGGAGGCAATAGCCCTCTCCAGGGTTCAGTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCC TTAAACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACAGTACGAGCATTCTGGTTAC TACCATCGTCCGATTTCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCA CCAC (SEQ ID NO:268)
2381H09	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAGGGYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITIVYAVEFDF VGAGYHRPISINYRTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:269)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGTGGGGGGGTACGGTTATTACCAGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCGTCGGCGCGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCA (SEQ ID NO:270)
2382B11	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAAAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYDFA GSGYHRPISINYRTEIDKPSQ HHSHHHH (SEQ ID NO:271)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGTGGGGCTACGGTTATTACCAGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGACTTCGCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCA ID NO:272)
2382B08	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPADAYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPSSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEFAPF GAGYHRPISINYRTEIDKPSQ HHSHHHH (SEQ ID NO:273)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGTGGCGGTACGGTTATTACCAGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTAGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTATATGCTGTGCAATTCGCTTCCCGGGCGCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCA ID NO:274)
2382C11	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAGGYGYRITY GETGGNSPVQEFTVPVSKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYDFA GSGYHRPISINYRTEIDKPSQ HHSHHHH (SEQ ID NO:275)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGTGGAGGTACGGTTATTACCAGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGACTTCGCGGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCA ID NO:276)
2382G03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAEAYGYRIT TYGETGGNSPVQEFTVPVSKGT ATISGLKPGVDYITIVYAVEYV FPAGYHRPISINYRTEIDKP SQHSHHHH (SEQ ID NO:277)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGTGAAGCAGAAGCGTACGGTTATTACCAGCATCACTTACGGCGAAACAGG AGGCAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTA AACCTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGCTTCCCCGGCGCGGTTACTAC CATCGTCCAATTTCCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCA C (SEQ ID NO:278)
2382H03	MGVSDVPRDLEVVAAT PTSLLLISWDAPAEAYGYRIT YGETGGNSPVQEFTVPVSKGTA TISGLKPGVDYITIVYAVEYPY PFAGYHRPISINYRTEIDKPS QHSHHHH (SEQ ID NO:279)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGTGGGGCGCTTACGGTTATTACCAGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGG CAATAGCCCTGTCCAGGAGTTCAGTGTGCCTGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAAC CTGGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCCCTACCCTTCGCGGGTTACTACCAT CGTCCAATTTCCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCA (SEQ ID NO:280)
2451A10	MGVTDVPRDMEVVAAT PTSLLLISWQPPAVTYGYRITY GETGGNSTLQGFVVPVYKGTAT ISGLKPGVDYITIVYAVEYPYD HSGYHRPISINYRTEIDKPSQ HHSHHHH (SEQ ID NO:281)	ATGGGTGTCACCGATGTGCCGCGACATGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCGCGGCTGTTACTTACGGTTATTATCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCACTCTCCAGCAGTTCAGTGTGCCTGTTTATAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCCTTAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCCGTACGACCATTCTGGTACTACCATCGG CCGATTTCCATTAAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATCCAGCACCATCACCA ID NO:282)

2451B02	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAAAYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFDYP GSGYYHRPISINRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:283)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCTGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTACCCCGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:284)
2451C11	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDPPAGAYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPYKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYPYD HSGYYHRPISINRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:285)	ATGGGATCGTGGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCCGCGGGTGGTGTGCTTACGGTTATTATCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCAAGCAGCAGTTCCTGTGCCTGTTATAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCCGTACGACCATTCGTTACTACCATCGG CCGATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:286)
2451H01	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPAGYGYRITY GETGGNSPVQEFVVPVSKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYDFP GSGYYHRPISINRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:287)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCTCCGGCTGCGGGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:288)
2011B11	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWAPPSDAYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIGKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEYPYS HAGYYHRPISINRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:289)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGCGCCGCTTCTGATGCGTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCCGTATTACATGCTGGTTACTACCATCGT CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:290)
2971A03	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDPPSDDYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIGKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFPWP HAGYYHRPISINRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:304)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACCCGCTTCGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGAGTTCCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:305)
2971A09	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPADYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIGKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFPWP HAGYYHRPISINRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:306)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCGCTGCGGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGAGTTCCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:307)
2971E02	MGVSDVPRDLEVVAAAT PTSLLLISWDAPSDDYGYRITY GETGGNSPVQEFVPIGKGTAT ISGLKPGVDYTTITVYAVEFPWP HAGYYHRPISINRTEIDKPSQ HHHHHH (SEQ ID NO:308)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTG ATCAGCTGGGACGCGCTTCGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAA TAGCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTG GCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGAGTTCCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGG CCAATTTCCATTAATTACCGCACAGAAATGACAAACCATCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:309)

SEQ ID NO последовательностей семейства пегилированных анти-PCSK9 Аднектинов, описываемых в данном изобретении, представлены в табл. 5.

Таблица 5. Семейство анти-PCSK9 Аднектинов, мутантных по остатку  
цистеина для последующего пэглирования

АТИ# / Клон# [Описание]	Последовательность	
	Аминокислотная	Нуклеотидная
АТИ001170 [2013E01-без His- тэга, мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILISWVPPSDDYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTEIDKPCQ (SEQ ID NO:78)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGTCCCCTTCAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATGCCAGTG (SEQ ID NO:79)
АТИ001172 [2013E01-без His- тэга, мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILISWVPPSDDYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTEGSGC (SEQ ID NO:80)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGTCCCCTTCAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGAACAGAGGTAGCGGTTGCTG (SEQ ID NO:81)
АТИ001174* [2013E01-без His- тэга, мутант по Cys <u>Также</u> <u>обозначенный как</u> <u>АТИ-1174</u>	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILISWVPPSDDYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTEIEKPCQ (SEQ ID NO:82)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGTCCCCTTCAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAATTGAGAAACCATGCCAGTG (SEQ ID NO:83)
АТИ001114* [2013E01] <u>му</u> <u>тант по Cys</u> <u>также</u> <u>обозначенный как</u> <u>АТИ-1114</u>	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILISWVPPSDDYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFPWPHAGYYHRP ISINYRTGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:84)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGTCCCCTTCAGATGATTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGGTAAAGGAACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCGAGTTCCGTGGCCACATGCTGGTTACTATCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:85)
АТИ000959* [1459D05 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILISWVPPSHGYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PPGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYPIKHSYGYHRP ISINYRTEIDKPCQHNNHH H (SEQ ID NO:86)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGCCGCCCGCTCTCATGGTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGGTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCCGTACAACATTTCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATGCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:87)
АТИ001063* [1784F03 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILISWRPPIHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIVEGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYTFKHSYGYHRP ISINYRTEIDKPCQHNNHH H (SEQ ID NO:88)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGAGGCCGCCGATTCATGCTTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGGTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATATACATTTAAACATTTCCGTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAATTGACAAACCATGCCAGCACCATCACCACCACCAC (SEQ ID NO:89)

АТ1001119* [2012А04 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILSWRPPSNHGY YRITYGETGGNSPVQEFTV PVNEGATATISGLKPGVDYT ITVYAVEFPFKWSGYHHRP ISINYRTGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:90)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGCGGCCCCCTCTAATGGTCACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTAAATGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATCCCTTCAAGTGGTCGGGCTACTACCATCGACCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:91)
АТ1001117* [2011H05 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILSWPSSHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTV PVGVTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYAFEGAGYHHRP ISINYRTGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:92)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGTCCGTCGTCTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:93)
АТ1001194* [2011H05(V23D) мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILSWPSSHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTV PVGVTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYAFEGAGYHHRP ISINYRTGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:94)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACCGTCGTCTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:95)
2011H05 (V23E)-мутант по Cys	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILSWEPSSHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTV PVGVTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYAFEGAGYHHRP ISINYRTGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:96)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGAACCGTCGTCTCATGCCTACGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTGGGGTAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACGCTTTCGAAGGGGCTGGTTACTACCATCGTCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:97)
АТ1001112 [1923B02 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILSWTPPKGYGY YRITYGETGGNSPVQEFTV PVGEGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYTYNGAGYHHRP ISINYRTGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:98)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGACGCCTCCCTTAAAGGTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTGTGGTGAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACAGTACAACGGTGCCGTTACTACCACCGGCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:99)
АТ1001110 [1922G04 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVA ATPTSLILSWRPPSHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFTV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYPWKGSYHHRP ISINYRTGSGCHHHHHH (SEQ ID NO:100)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGCACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGCGGCCCATCTCATGCTTATGGTTATTACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCACTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCGTGGAAAGGTTCTGGTTACTACCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:101)

АТ1001128 [1922G04 мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVV ATPTSLILSWRPPSHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYPMKGSYGYHRP ISINYRTEIDKPCQHNNHH H (SEQ ID NO:102)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGCGGCCCATCTCATGCTTATGGTTATACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCCGTGAAAGGTCTGGTTACTACCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAAATTCACAAACCATGCCAGCACCCACCACCACCACCAC (SEQ ID NO:103)
АТ1001184 * [1922G04(R23E) мутант по Cys]	MGVSDVPRDLEVVV ATPTSLILSWRPPSHAYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PIGKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEYPMKGSYGYHRP ISINYRTEGSGCHNNHH (SEQ ID NO:104)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGAAACCCCATCTCATGCTTATGGTTATACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTATTGGGAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATACCCGTGAAAGGTCTGGTTACTACCATCGGCCAATTTCCAT TAATTACCGCACAGAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:105)
2381D04- Cys	MGVSDVPRDLEVVV ATPTSLILSWRPPSHAYGY GEYYRITYGETGGNSPLQQ FTVPGSKGTATISGLKPGV DYTITVYAVEFPYDHSYGY HRPISINYRTGSGCHNNHH H (SEQ ID NO:291)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGAGCGGTTGAGCCGTTGCCGGGGGGCGGAGTATTACCGGATCACTTACGGCGAAACAGGAG GCAATAGCCCTTGCAGCAGTTCCTGTGCCTGGTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCT GGCGTTGATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGTACGACCAATTCGTTACTACCATCGGCC CATTTCCATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:292)
2382D09- Cys	MGVSDVPRDLEVVV ATPTSLILSWDAPAEYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PVSKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFDFFGAGYHRP ISINYRTGSGCHNNHH (SEQ ID NO:293)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACGCTCCGGCTGAAGGTACGGTTATACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:294)
2451B06- Cys	MGVSDVPRDLEVVV ATPTSLILSWDAPADGGYGY YYRITYGETGGNSPVQEFV VPVSKGTATISGLKPGVDYT TITVYAVEFDFFGAGYHRP PISINYRTGSGCHNNHH (SEQ ID NO:295)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACGCTCCGGCTGATGGTGGTTACGGTTATACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATA GCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTT GATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAAATTTCCAT CATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:296)
2382E05- Cys	MGVSDVPRDLEVVV ATPTSLILSWDAPAEYGYGY YYRITYGETGGNSPVQEFV VPVSKGTATISGLKPGVDYT TITVYAVEFDFFGAGYHRP PISINYRTGSGCHNNHH (SEQ ID NO:297)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACGCTCCGGCTGAGGGCGGCTACGGTTATACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATA GCCCTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTT GATTATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCGCGGTTACTACCATCGTCCAAATTTCCAT CATTAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:298)
2382B09- Cys	MGVSDVPRDLEVVV ATPTSLILSWDAPADAYGY YRITYGETGGNSPVQEFV PVSKGTATISGLKPGVDYT ITVYAVEFDYPMKGSYGYHRP ISINYRTGSGCHNNHH (SEQ ID NO:299)	ATGGGAGTTTCTGATGTGCCGCGACCTGGAAGTGGTTGCTGCCACCCACCAGCCTGCTGAT CAGCTGGGACGCTCCGGCTGACCGTACGGTTATACCGCATCACTTACGGCGAAACAGGAGGCAATAGCC CTGTCCAGGAGTTCCTGTGCCTGTTTCTAAAGGTACAGCTACCATCAGCGGCCTTAAACCTGGCGTTGAT TATACCATCACTGTGTATGCTGTGCAATTCGACTTCCCGGCTCCGGTTACTACCATCGTCCAAATTTCCAT TAATTACCGCACAGGTAGCGGTTGCCACCATCACCACCATCAC (SEQ ID NO:300)

\*Примечание: некоторые перечисленные белки не были пэглированы, но являются подходящими для пэглирования за счет присутствия мутантного остатка цистеина. Белки, которые были пэглированы, отмечены звездочкой.

Технология слитой нуклеотидной и белковой последовательностей.

Одним из объектов настоящего изобретения является Аднектин, содержащий домен III типа фибронектина, связывающий PCSK9. Одним из способов быстро получения и тестирования доменов Fn3 со специфическими свойствами связывания является технология слитой нуклеотидной и белковой последовательностей подразделения Adnexus, компании Bristol-Myers Squibb R&D Company. В данной заявке описывается технология экспрессии *in vivo* и введения tag-последовательностей, называемая PROfusion, в которой используется соединение белков с нуклеиновыми кислотами (слитые последовательности РНК- или ДНК-белок), для идентификации новых полипептидов и аминокислотных мотивов, которые существенны для связывания с белками. Технология слитой нуклеотидной и белковой последовательности

стей представляет собой технологию ковалентного спаривания белка с нуклеиновой кислотой, кодирующей данный белок. Подробная информация о технологии слитой нуклеотидной и белковой последовательностей и методах скрининга библиотек белков на основе структурной части фибронектина приведена в Szostak et al., U.S. Patent № 6258558, 6261804, 6214553, 6281344, 6207446, 6518018 и 6818418; и Roberts et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 94:12297-12302 (1997) и включена в данную заявку посредством ссылки.

Векторы и полинуклеотидные варианты исполнения.

Нуклеиновые кислоты, кодирующие любой из описанных в данной заявке белков или полипептидов, могут быть синтезированы химическим путем. Использование кодонов может быть оптимизировано для повышения экспрессии продукта в клетке. Частота использования определенных кодонов зависит от выбранного типа клеток. Наборы частот использования кодонов известны для *E.coli* и других бактерий, а также клеток млекопитающих, клеток растений, дрожжевых клетки и клеток насекомых. См. Mayfield et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100(2):438-442 (Jan. 21, 2003); Sinclair et al., Protein Expr. Purif., 26(1):96-105 (Oct. 2002); Connell N.D., Curr. Opin. Biotechnol., 12(5):446-449 (Oct. 2001); Makrides et al., Microbiol. Rev., 60(3):512-538 (Sep. 1996); и Sharp et al., Yeast, 7(7):657-678 (Oct. 1991).

Общие принципы работы с нуклеиновыми кислотами описаны, например, здесь: Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989) или Ausubel F. et al., Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing and Wiley-Interscience, New York (1987), и в периодически выпускаемых обновлениях, включенных в данную заявку посредством ссылки. В общем виде последовательность ДНК, кодирующая полипептид, с помощью определенных манипуляций соединяется с последовательностью подходящих транскрипционных или трансляционных регуляторных элементов из генов млекопитающих, вирусов или насекомых. Такие регуляторные элементы включают транскрипционный промотор, необязательную последовательность оператора, для контроля транскрипции, подходящую последовательность для сайта связывания рибосомы на мРНК, последовательности, кодирующие терминацию транскрипции и трансляции. Дополнительно вводятся последовательности ориджина репликации, которая обеспечивает способность конструкции воспроизводиться в клетке-хозяине, и ген, кодирующий селективный признак, облегчающий селекцию трансформированных клеток.

Белки, описаны в данной заявке, могут быть получены с помощью технологии рекомбинантных ДНК не только в интактном виде, но также в составе слитых полипептидов с гетерологичными полипептидами, которыми предпочтительно являются сигнальные последовательности или другие полипептиды, обладающие специфическими сайтами расщепления на N-конце зрелого белка или полипептида. Выбираемые гетерологичные сигнальные последовательности, предпочтительно, должны распознаваться и процессироваться (т.е. отщепляться сигнальной пептидазой) клетки-хозяина. Примером N-концевой сигнальной последовательности для наработки полипептидов в клетках млекопитающих является последовательность METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO: 326), удаляемая клеткой-хозяином после экспрессии полипептида.

Для клеток прокариот, которые не распознают природные сигнальные последовательности, такие последовательности заменяются прокариотическими сигнальными последовательностями, выбранными, например, из группы лидерных последовательностей щелочной фосфатазы, пенициллиназы, LPP или термостабильного энтеротоксина II.

Для секреции во внешнюю среду при наработке полипептида в дрожжевых клетках нативная сигнальная последовательность может быть заменена, например, сигнальной последовательностью дрожжевой инвертазы, факторов (включая лидерные последовательности альфа-факторов *Saccharomyces* и *Kluyveromyces*), кислой фосфатазы, глюкоамилазы *S.albicans* или сигнальными последовательностями, описанным в U.S. Patent № 5631144. При экспрессии в клетках млекопитающих применяются сигнальные последовательности млекопитающих, а также вирусные сигнальные последовательности для секреции, например сигнальная последовательность вируса простого герпеса gD. Такие последовательности ДНК могут быть лигированы в одной рамке считывания с последовательностью ДНК, кодирующей белок.

Векторные системы для клонирования и экспрессии имеют в своем составе последовательности, обеспечивающие репликацию вектора в одном или нескольких типах клеток-хозяев. В общем случае векторные системы для клонирования содержат последовательность, позволяющую вектору реплицироваться независимо от хромосомной ДНК клетки хозяина, и включают последовательность ориджина репликации или автономно реплицирующиеся последовательности. Такие последовательности хорошо известны для различных бактерий, дрожжей и вирусов. Ориджин репликации плазмиды pBR322 является подходящим для большинства грам-отрицательных бактерий, ориджин 2-микронной плазмиды применим для дрожжевых систем, различные вирусные ориджины (SV40, полиомавирус, аденовирус, вирус везикулярного стоматита, папилломавирус быка) применимы для векторов для клонирования, амплифицируемых в клетках млекопитающих.

Вектора для экспрессии и клонирования могут содержать селективные гены, также называемые генами селективных маркеров. Типичные гены селективных маркеров кодируют белки, которые: а) обеспечивают устойчивость к антибиотиками и другим токсинам, например ампициллин, неомицин, метотрексат, трациклин; б) восстанавливают дефект ауксотрофных генов; с) обеспечивают синтез необходи-

мых питательных веществ, недоступных из среды культивирования, например ген, кодирующий D-аланин рацемазу для бактерий *Bacilli*.

Вектора для экспрессии и клонирования обычно содержат последовательность промотора, распознаваемую системами клетки-хозяина, и присоединенную непосредственно к последовательности, кодирующей белок, описываемый в настоящем изобретении, например белок на основе структурной части фибронектина. Промоторные последовательности, применимые для прокариотических систем, включают промотор гена *rhoA*, промотор бета-лактамазной и лактозной систем, промотор щелочной фосфатазы, промотор триптофановой системы (*trp*), гибридные промоторы, такие как *tan*-промотор. Впрочем, другие известные бактериальные промоторы также применимы. Промоторы для применения в бактериальных системах также содержат последовательность Шайна-Дельгарно (Shine-Dalgarno, S.D.), присоединенную непосредственно к ДНК, кодирующей белок, описываемый в настоящем изобретении. Последовательности промоторов для эукариотических систем являются известными. Практически все гены эукариот обладают АТ-богатой областью расположенной за 25-30 п.о. до точки инициации транскрипции. Другая последовательность, расположенная за 70-80 п.о. до точки инициации транскрипции многих генов, CNCAAT, в которой N обозначает любой нуклеотид. На 3'-конце большинства генов эукариот расположена последовательность AATAAA, которая, вероятно, является сигналом полиаденилирования (добавления поли-А) на 3'-конец кодирующей последовательности (мРНК). Все эти последовательности подходят для добавления в структуру векторов для экспрессии в клетках млекопитающих.

Примерами применимых последовательностей промоторов для использования в дрожжевых системах являются промоторы 3-фосфоглицераткиназы или других ферментов гликолиза, таких как енолазы, глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы, гексокиназы, пируватдекарбоксилазы, фосфофруктокиназы, глюкозо-6-фосфат изомеразы, 3-фосфоглицерат мутазы, пируваткиназы, триозофосфат изомеразы, фосфоглюкозоизомеразы и глюкокиназы.

Процесс транскрипции с векторов для экспрессии в клетках млекопитающих можно контролировать, например, за счет промоторов из вирусных геномов, таких как полиомавирус, вирус оспы кур, аденовирус (такой как Аденовирус 2), вирус папилломы быка, вирус саркомы птиц, цитомегаловирус, ретровирус, вирус гепатита В и, наиболее предпочтительно, вируса SV40; за счет гетерологичных промоторов млекопитающих совместимых с клеткой-хозяином, например, актинового или иммуноглобулинового промоторов; за счет промоторов белков теплового шока.

Уровень транскрипции ДНК, кодирующей описываемые в данном изобретении белки, клетками высших эукариот, в большинстве случаев, повышается за счет введения в последовательность вектора специальных энхансерных последовательностей. В настоящее время известны многие последовательности энхансеров генов млекопитающих (глобин, эластаза, альбумин, альфа-фетопроtein, инсулин). Однако, обычно используются вирусные энхансеры. Примеры включают энхансер вируса SV40, расположенный в конце последовательности ориджина репликации (100-270 п.о.), энхансер раннего промотора цитомегаловируса, энхансер вируса полиомы, расположенный в конце последовательности ориджина репликации, энхансер аденовируса. См. Yaniv, Nature, 297:17-18 (1982) об энхансерных элементах для активации промоторов эукариот. Энхансеры могут быть введены в последовательность вектора в 5' или 3' положении относительно пептид-кодирующей последовательности, однако, предпочтительным является расположение энхансера в 5' положении относительно его промотора.

Экспрессионные векторы, используемые в клетках эукариот (например, дрожжей, грибов, насекомых, растений, человека или ядерных клеток других многоклеточных организмов), также содержат последовательности, необходимые для терминации транскрипции и стабилизации мРНК в клетке. Такие последовательности обычно имеются в 5' и, реже, 3'-нетранслируемых областях эукариотических или вирусных ДНК или кДНК. Такие области содержат нуклеотидные сегменты, транскрибируемые как сигналы полиаденилирования в нетранслируемой части мРНК, кодирующей белок, описываемый в данном изобретении. Одной из применимых последовательностей, терминирующих транскрипцию, является последовательность области полиаденилирования бычьего гормона роста. См. WO 94/11026 и экспрессионные вектора, описанные здесь.

Рекомбинантная ДНК также может включать тэг-последовательность любого типа, которая применяется для очистки нарабатываемого белка. Примеры тэг-последовательностей включают, но не ограничиваются, гистидиновый тэг, FLAG-тэг, мус-тэг, HA-тэг, GST-тэг. Соответствующие векторные системы для использования в клетках бактерий, грибов, дрожжей и млекопитающих описаны в Cloning Vectors: A Laboratory Manual, (Elsevier, New York (1985)), и соответствующее описание которых включается в данную заявку посредством ссылки.

Экспрессионный конструктор вводится в клетки методом, соответствующим типу клеток-хозяев, что очевидно для специалистов в данной области. В соответствующей области знаний разработан широкий набор методов введения нуклеиновых кислот в клетки, включая, но не ограничиваясь, метод электропорации; трансфекция с помощью хлорида кальция, хлорида рубидия, фосфата кальция, DEAE-декстрана или других веществ; баллистическая трансфекция; липофекции; инфекции (когда вектор является инфицирующим агентом).

Подходящими клетками-хозяевами являются клетки прокариот, дрожжей, млекопитающих или бак-



терий. Подходящими бактериями являются грам-положительные или грам-отрицательные организмы, например *E.coli* или *Bacillus spp.* Также для наработки полипептидов могут быть использованы клетки дрожжей, преимущественно видов рода *Saccharomyces*, например *S.cerevisiae*. Различные культуры клеток млекопитающих или насекомых также могут быть использованы для наработки рекомбинантных белков. Бакуловирусные системы для наработки гетерологичные белков в клетках насекомых рассмотрены в Luckow et al. (*Bio/Technology*, 6:47 (1988)). Примеры применимых линий клеток млекопитающих включают эндотелиальные клетки, клетки почки обезьяны линии COS-7, CV-1, L клетки, C127, 3T3, клетки яичника китайского хомячка (CHO), эмбриональные клетки почки человека, HeLa, 293, 293T и ВНК. Очищенные полипептиды получают путем культивирования клеток подходящей системы вектор/хозяин для наработки рекомбинантного белка. Для большинства приложений небольшой размер многих полипептидов, описанных в данной заявке, делает предпочтительным наработку продукта в клетках *E.coli*. Затем наработанный белок выделяют из среды для культивирования или клеточных экстрактов.

#### Продукция белка.

Клетки-хозяева трансформируют описанными здесь векторами для экспрессии белка и культивируют в традиционной среде, модифицированной соответствующим образом, для активации промоторов, селекции трансформантов или амплификации генов, кодирующих целевую последовательность. В приведенных здесь примерах для высокопроизводительной наработки белков (НТПР) и среднemasштабной наработки были использованы бактериальные клетки штамма HMS174. Клетки данного штамма для продукции белков, описываемых в данном изобретении, могут культивироваться в различных средах. Для клеток данного штамма применимы коммерчески доступные среды, такие как Ham's F10 (Sigma), Minimal Essential Medium ((MEM), (Sigma)), RPMI-1640 (Sigma) и Dulbecco's Modified Eagle's Medium ((DMEM), Sigma)). Кроме того, для культивирования клеток данного штамма может быть использована среда, описанная в Ham et al., *Meth. Enzymol.*, 58:44 (1979), Barites et al., *Anal. Biochem.*, 102:255 (1980), U.S. Patent № 4767704, 4657866, 4927762, 4560655, 5122469, 6048728, 5672502 или U.S. Patent № RE 30985. Любая из указанных сред для культивирования может быть дополнена, при необходимости, гормонами и/или другими ростовыми факторами (такими как инсулин, трансферрин или эпидермальный фактор роста), солями (такими как хлорид натрия, кальций, магний и фосфат), буферами (таким как HEPES), нуклеотидами (такими как аденозин или тимидин), антибиотиками (такими как Гентамицин), следовыми компонентами (определяемыми как неорганические вещества, конечная концентрация которых обычно находится в микромолярном диапазоне), глюкозой или эквивалентным источником энергии. Любые другие необходимые компоненты также могут быть включены в состав среды в подходящих концентрациях, известных специалистам в данной сфере. Условия культивирования, такие как температура, pH и т.п. являются теми же, что используются для клеток-хозяев данного типа и известны специалистам в соответствующей сфере.

Белки, описанные в данной заявке, могут также быть получены с помощью систем бесклеточной трансляции. Для этого последовательности нуклеиновых кислот, кодирующих полипептид, должны быть модифицированы для транскрипции и трансляции *in vitro* в конкретной бесклеточной системе (эукариотической, такой как бесклеточная система млекопитающих или дрожжей, или прокариотической, такой как бактериальная система бесклеточной трансляции).

Белки, описанные в данном изобретении, также могут быть получены с помощью химического синтеза (например, с помощью методов, описанных в *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2nd Edition, The Pierce Chemical Co., Rockford, IL (1984)). Модификации в данные белки также могут вноситься методами химического синтеза.

Белки, описанные в настоящем изобретении, могут быть очищены общеизвестными методами выделения и очистки белковой химии. Неограничивающие примеры включают экстракцию, перекристаллизацию, высаливание (например, сульфатами аммония или натрия), центрифугирование, диализ, ультрафильтрацию, адсорбционную хроматографию, ионообменную хроматографию, гидрофобную хроматографию, нормально-фазную хроматографию, обратно-фазную хроматографию, гель-фильтрацию, гель-проникающую хроматографию, аффинную хроматографию, электрофорез, противотоковое распределение или любые комбинации данных методов. После очистки полипептиды могут быть переведены в различные буферные растворы и/или сконцентрированы с помощью любого из различных методов, известных в соответствующей области, включая, но не ограничиваясь, фильтрацию и диализ.

Степень очистки полипептида предпочтительно составляет по меньшей мере 85% или, предпочтительно, по меньшей мере 95% и, наиболее предпочтительно, по меньшей мере 98%. Независимо от точного численного значения степени чистоты данный полипептид является достаточно очищенным для применения в качестве фармацевтического продукта.

Для получения анти-PCSK9 Аднектина был использован платформенный метод производства. Анти-PCSK9 Аднектин нарабатывается в клетках *Escherichia coli* (*E.coli*). Клетки *E.coli* штамма BLR (DE3) были трансформированы экспрессионным вектором (pET9d/AT1001173), кодирующим белок, накапливающийся внутри клетки в растворимой форме. Клетки данного рекомбинантного штамма культивируются при перемешивании в баке ферментера. По окончании процесса ферментации клетки собираются,

лизируются, после чего лизат осветляется для дальнейшего процесса очистки. АТ1001173 представляет собой вариант АТ1001114 без His-тэга. Очищенный анти-PCSK9 Аднектин конъюгируется с разветвленным метоксилПЭГом массой 40 кДа с использованием малеинимидного линкера. Конъюгированный белок подвергается повторной очистке для удаления несвязанных ПЭГ и анти-PCSK9 Аднектина, а также примесей. Контроль качества осуществляется с нерасфасованным лекарственным веществом.

Терапевтические применения *in vivo*.

Одним из объектов изобретения является применение анти-PCSK9 Аднектина при лечении атеросклероза, гиперхолестеринемии и других заболеваний, связанных с повышенным уровнем холестерина. Данная заявка также описывает методы введения анти-PCSK9 Аднектина субъекту. В некоторых вариантах исполнения субъектом является человек. В некоторых вариантах исполнения анти-PCSK9 Аднектин фармацевтически приемлем для млекопитающих, в частности человека. Термин "фармацевтически приемлемый" полипептид относится к полипептидам, при введении которых животным не наблюдаются существенные побочные эффекты. Такими полипептидами могут быть полипептиды почти свободные от эндотоксина или содержащие очень низкий уровень эндотоксина.

Лекарственная форма и введение.

Данная заявка также описывает фармацевтически приемлемые композиции, содержащие анти-PCSK9 Аднектин или слитые белки с анти-PCSK9 Аднектином, описанные в данной заявке, в которых данная композиция практически полностью освобождена от эндотоксина. Терапевтические лекарственные формы, содержащие анти-PCSK9 Аднектин или слитые белки с анти-PCSK9 Аднектином, подготавливают для хранения путем смешивания описанного полипептида с нужной степенью чистоты с необязательными физиологически приемлемыми носителями, вспомогательными веществами или стабилизаторами (Osol A., Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th Edition (1980)) в форме водных растворов, лиофилизированных или высушенных лекарственных форм. Приемлемые носители, вспомогательные вещества или стабилизаторы являются нетоксичными для субъекта в применяемых дозировках и концентрациях и включают буферы, такие как фосфатный, цитратный, и на основе других органических кислот; антиоксиданты включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты (такие как октадецидиметилбензил хлорида аммония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония, хлорид бензетония, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен, катехол, резорцинол, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол); низкомолекулярные (менее чем 10 аминокислотных остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстраны; хелаторы, такие как ЭДТА; сахара, такие как сахароза, маннитол, трегалоза или сорбитол; формирующие соли противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, Zn-протеиновые комплексы; и/или неионные поверхностно активные вещества, такие как Tween, PLURONIC® или полиэтиленгликоль (ПЭГ)).

Лекарственные формы, описываемые в данной заявке, могут также содержать более чем одно активное вещество в зависимости от конкретных показаний при применении, предпочтительно обладающие дополняющими активностями и не влияющими нежелательно один на другой. Такие молекулы подходят для комбинирования в количествах, которые эффективны для достижения целей применения.

Лекарственные формы для применения *in vivo* должны быть стерильны. Это достигается путем фильтрации через стерильные фильтрационные мембраны.

Квалифицированный персонал должен понимать, что дозировка каждого терапевтического агента будет зависеть от свойств данного агента.

Для терапевтических применений анти-PCSK9 Аднектин или слитые белки, содержащие анти-PCSK9 Аднектин, вводятся субъекту фармацевтически приемлемым путем. Он может быть введен внутривенно в виде болюса или путем продолжительной инфузии в течение определенного периода времени, или подкожно. Подходящие фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества и разбавители хорошо известны и могут быть определены специалистами в данной сфере на основании клинической ситуации. Примеры подходящих носителей, разбавителей и/или вспомогательных веществ включают: (1) фосфатно-солевой раствор Дульбекко, (2) 0,9%-ный солевой раствор (0,9% w/v NaCl), и (3) 5% (w/v) декстроза.

Метод, описываемый в данном изобретении, может применяться на практике *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*.

Введение анти-PCSK9 Аднектина или слитых белков с анти-PCSK9 Аднектином и одного или более дополнительных терапевтических агентов, вводимых либо совместно, либо последовательно, может осуществляться, как описано выше для терапевтических приложений. Подходящие фармацевтически приемлемые носители, разбавители и вспомогательные вещества для совместного введения определяются специалистами в данной сфере в зависимости от свойств конкретных вводимых терапевтических веществ.

В случае водной лекарственной формы скорее, чем в случае лиофилизованной формы, белок, как правило, будет находиться в концентрации от 0,1 до 100 мг/мл. Однако допустимы вариации в широких

пределах от указанного диапазона. При лечении заболевания соответствующая дозировка анти-PCSK9 Аднектина или слитых с анти-PCSK9 Аднектином белков будет зависеть от типа, тяжести и степени прогресса заболевания, по отношению к которому проводится лечение, от курса предшествующей терапии, истории болезни, ответа организма на белок и решения наблюдающего врача независимо от целей введения (профилактика или другие терапевтические цели). Данный белок применим для введения пациенту однократно или для серии введений.

Слитые Аднектины, связывающие сывороточный альбумин (SABA).

Другими объектами данного изобретения являются слитые белки, содержащие анти-PCSK9 Аднектин слитый с  $^{10}\text{Fn3}$  доменами, связывающими сывороточный альбумин человека (Serum Albumin Binding Adnectin ( $^{10}\text{Fn3}$  домен) или SABA). Такие слитые белки обладают более длительным временем полужизни в плазме в присутствии альбумина по сравнению с неслитыми анти-PCSK9 Аднектинами (например, неконъюгированными с РК-группой).

Вследствие небольшого размера (~10 кДа) домены  $^{10}\text{Fn3}$  быстро выводятся из циркулирующей крови за счет почечной фильтрации и деградации ( $t_{1/2}$  = 15-45 мин у мышей; 1-3 ч у обезьян). Слияние домена  $^{10}\text{Fn3}$ , такого как анти-PCSK9 Аднектин, со вторым полипептидом, содержащим домен  $^{10}\text{Fn3}$  специфически связывающий сывороточный альбумин, например сывороточный альбумин человека (HSA), может быть использовано для увеличения  $t_{1/2}$  анти-PCSK9 Аднектина.

В определенных вариантах исполнения время полужизни в плазме анти-PCSK9 Аднектина слитого с SABA повышается по сравнению со временем полужизни в плазме анти-PCSK9 Аднектина не конъюгированного с SABA. В определенных вариантах исполнения время полужизни в плазме белка слитого с SABA по меньшей мере на 20, 40, 60, 80, 100, 120, 150, 180, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1500, 1800, 1900, 2000, 2500 или 3000% выше по сравнению со временем полужизни в плазме анти-PCSK9 Аднектина не конъюгированного с SABA. В других вариантах исполнения время полужизни в плазме белка слитого с SABA по меньшей мере в 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 15, 17, 20, 22, 25, 27, 30, 35, 40 или 50 раз выше по сравнению со временем полужизни в плазме анти-PCSK9 Аднектина не конъюгированного с SABA. В некоторых вариантах исполнения время полужизни в плазме белка слитого с SABA составляет по меньшей мере 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 135, 140, 150, 160 или 200 часов.

В определенных вариантах часть слитого белка, связывающая сывороточный альбумин, связывает HSA с  $K_D$  менее чем 3, 2,5, 2, 1,5, 1 мкМ, 500, 100, 50, 10, 1 нМ, 500, 100 пМ, 100, 50 или 10 пМ. В определенных вариантах исполнения часть слитого белка, связывающая сывороточный альбумин, связывает HSA с  $K_D$  менее чем 3, 2,5, 2, 1,5, 1 мкМ, 500, 100, 50, 10, 1 нМ, 500, 100 пМ, 100, 50 или 10 пМ в диапазоне pH 5,5-7,4 при температуре 25 или 37°C. В определенных вариантах исполнения часть слитого белка, связывающая сывороточный альбумин, связывается с HSA более сильно при pH менее 7,4, по сравнению со связыванием при pH 7,4.

Соответственно, слитые с SABA молекулы, описанные в данной заявке применимы для повышения времени полужизни в плазме анти-PCSK9 Аднектина путем создания слитых белков анти-PCSK9 Аднектина с SABA. Настоящее изобретение предполагает применение слитых с SABA молекул при заболеваниях, вызванных дисрегуляцией PCSK9.

Слияние может быть выполнено путем присоединения анти-PCSK9 Аднектина к любому из концов последовательности SABA, т.е. могут быть получены любые конфигурации: SABA-анти-PCSK9 Аднектин или анти-PCSK9 Аднектин-SABA.

У человека концентрация HSA в плазме составляет 600 мкМ, а  $t_{1/2}$  19 дней. Увеличение параметра  $t_{1/2}$ , возможно, связано рециркуляцией HSA за счет неонатального Fc-рецептора (FcRn). После эндосомального поглощения клетками эндотелия HSA связывается с FcRn, что приводит к обратному высвобождению HSA в кровотока, минуя лизосомальную деградацию. Данное связывание носит pH-зависимый характер. Рецептор FcRn экспрессируется большим количеством клеток и такой путь рециркуляции HSA считается конститутивным. В большинстве типов клеток почти весь рецептор FcRn находится внутри внутриклеточных сортирующих эндосом. HSA легко интернализуется посредством неспецифического механизма во время пиноцитоза и защищается от деградации в лизосомах за счет взаимодействия с FcRn. В условиях кислого pH внутри эндосомы аффинность связывания HSA с FcRn возрастает (5 мкМ при pH 6.0). Связывание HSA с FcRn отменяет лизосомальную деградацию HSA и приводит к выведению молекулы HSA на поверхность клетки за счет транцитоза.

В определенных вариантах исполнения часть слитого с SABA белка, связывающая сывороточный альбумин, описанного в данной заявке, способна связывать сывороточный альбумин обезьян, и/или крыс, и/или мышей. В определенных вариантах исполнения часть слитого с SABA белка, связывающая сывороточный альбумин человека (HSA), описанного в данной заявке, способна связывать сывороточный альбумин макаки-резус (RhSA) или сывороточный альбумин яванского макака (CySA) с константой  $K_D$  менее чем 3, 2,5, 2, 1,5, 1 мкМ, 500, 100, 50, 10, 1 нМ, 500 или 100 пМ.

В определенных вариантах исполнения часть слитого белка с SABA, связывающая сывороточный альбумин, описанного в данной заявке, способна связывать домены I и/или II HSA. В одном из вариантов исполнения часть слитого белка с SABA, связывающая HSA не связывается с доменом III HSA.

В определенных вариантах исполнения часть слитого белка с SABA, связывающая сывороточный альбумин, содержит последовательность, обладающую по меньшей мере 40, 50, 60, 70, 75, 80 или 85% идентичности с доменом <sup>10</sup>Fn3 дикого типа (SEQ ID NO: 1). В одном из вариантов исполнения по меньшей мере одна из петель BC, DE или FG изменена по сравнению с доменом <sup>10</sup>Fn3 дикого типа. В другом варианте исполнения по меньшей мере две из петель BC, DE или FG изменены по сравнению с доменом <sup>10</sup>Fn3 дикого типа. В другом варианте исполнения все три петли BC, DE или FG изменены по сравнению с доменом <sup>10</sup>Fn3 дикого типа. В других вариантах исполнения SABA содержит последовательность, обладающую по меньшей мере 40, 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% идентичности по отношению к любой из 26 последовательностей SABA, приведенных в табл. 6 (т.е. SEQ ID NO: 334, 338, 342, 346 и 348-370) или к любой из удлиненных последовательностей SABA, приведенных в табл. 6 (т.е. SEQ ID NO: 420-447, за исключением 6xHis-тэга).

В определенных вариантах исполнения последовательности связывающих сывороточный альбумин Аднектинов на основе структуры домена <sup>10</sup>Fn3 могут быть в общем виде выражены как

EVVAAT(X)<sub>z</sub>SLLI(X)<sub>x</sub>YYRITYGE(X)<sub>y</sub>QEFTV(X)<sub>y</sub>ATI(X)<sub>c</sub>DYTITVYAV(X)<sub>z</sub>IS

INVRT (SEQ ID NO:328)

В определенных вариантах исполнения последовательности связывающих сывороточный альбумин Аднектинов на основе структуры домена <sup>10</sup>Fn3 могут быть в общем виде выражены как

EVVAATPTSLI(X)<sub>x</sub>YYRITYGETGGNSPVQEFTV(X)<sub>y</sub>ATISGLKPGVDYIT

VYAV(X)<sub>z</sub>ISINVRT (SEQ ID NO:329)

Как описано в данной заявке для анти-PCSK9 Аднектинов, последовательности SEQ ID NO: 328 и 329 могут быть применены к молекулам SABA таким же образом. В примерах реализации изобретения петли BC, DE или FG, представленные (X)<sub>x</sub>, (X)<sub>y</sub> и (X)<sub>z</sub>, соответственно, замещаются полипептидами, содержащими последовательности петель BC, DE или FG из любого другого белка, связывающего HSA, последовательности которых приведены в табл. 6 ниже (т.е. SEQ ID NO: 330, 334, 338, 342, 346 и 348-370 в табл. 6). В определенных вариантах исполнения последовательности петель BC, DE или FG, приведенные в табл. 6, могут содержать один или более аминокислотный остаток, фланкирующий N- или C-конец. В частности, петля BC может содержать остатки SW на N-конце последовательности петли BC, приведенной в табл. 6, когда замещает (X)<sub>x</sub> в последовательности SEQ ID NO: 328. Сходно, петля DE может содержать остаток P перед последовательностью петли DE и остаток T после петли DE, когда замещает (X)<sub>y</sub> в последовательности SEQ ID NO: 328. Петля FG может содержать остаток P после последовательности петли FG, когда замещает (X)<sub>z</sub> в последовательности SEQ ID NO: 328. Например, в последовательности SEQ ID NO: 330 показано, что петли BC, DE или FG содержат последовательности HSY-YEQNS (SEQ ID NO: 638), YSQT (SEQ ID NO: 639) и YGSKYYY (SEQ ID NO: 640) соответственно. Однако при замещении (X)<sub>x</sub>, (X)<sub>y</sub> и (X)<sub>z</sub> в последовательности SEQ ID NO: 328, т.е. петель BC, DE и FG, последовательность (X)<sub>x</sub> может быть SWHSYYEQNS (SEQ ID NO: 641), последовательность (X)<sub>y</sub> может быть PYSQTT (SEQ ID NO: 642), последовательность (X)<sub>z</sub> может быть YGSKYYY (SEQ ID NO: 643).

В определенных вариантах исполнения последовательность SABA, используемая для создания слитых белков, описанных в данной заявке, может содержать последовательности SEQ ID NO: 328 или 329, в которых последовательности петель BC, DE или FG, представленных соответственно обозначениями (X)<sub>x</sub>, (X)<sub>y</sub> и (X)<sub>z</sub>, заменены соответствующим набором последовательностей петель BC, DE или FG из любой из 26 коровых последовательностей SABA (т.е. SEQ ID NO: 330, 334, 338, 342, 346 и 348-370 в табл. 6) или последовательностями, по меньшей мере на 75, 80, 85, 90, 95, 97, 98 или 99% идентичными последовательностям петель BC, DE или FG 26 коровых последовательностей SABA. В примерах осуществления изобретения последовательность SABA, как описано в данной заявке, определяется последовательностью SEQ ID NO: 329 и включает набор последовательностей петель BC, DE или FG из любых из 26 коровых последовательностей SABA (т.е. SEQ ID NO: 330, 334, 338, 342, 346 и 348-370 в табл. 6), опционально с N- или C-концевыми добавлениями к последовательностям петель, как описано выше. Например, SABA1 имеет коровую последовательность, определенную последовательностью SEQ ID NO: 330 и содержит последовательности петель BC, DE или FG, определенные в последовательностях SEQ ID NO: 331-333 соответственно. Таким образом, последовательность SABA, основанная на коровой последовательности SABA1, может содержать последовательности SEQ ID NO: 328 или 329, в которой (X)<sub>x</sub>, содержит последовательность SEQ ID NO: 331, (X)<sub>y</sub> содержит последовательность SEQ ID NO: 332, (X)<sub>z</sub> содержит последовательность SEQ ID NO: 333. В некоторых вариантах исполнения последовательности, которые заменяют (X)<sub>x</sub>, (X)<sub>y</sub>, и (X)<sub>z</sub>, содержат дополнительный аминокислотный остаток(ки) на одном или на двух концах петель, как описано выше. Настоящим изобретением предполагается использование для сходных конструкций данного набора последовательностей петель BC, DE или FG из других коровых последовательностей SABA. Структурные области такой последовательности SABA могут содержать в любом месте от 0 до 20, от 0 до 15, от 0 до 10, от 0 до 8, от 0 до 6, от 0 до 5, от 0 до 4, от 0 до 3, от 0 до 2 или от 0 до 1 замены, консервативной замены, делеции или вставки относительно структурных аминокислотных остатков последовательности SEQ ID NO: 1. Такие структурные модификации могут вноситься до тех пор, пока полипептид SABA остается способным связывать сывороточный альбумин,

например HSA с требуемым значением Kd.

В определенных вариантах исполнения последовательность SABA (например, коровая последовательность SABA или последовательность, основанная на ней, как описано выше) может быть изменена и содержать N-концевую удлиняющую последовательность и/или C-концевую удлиняющую последовательность. Примеры удлиняющих последовательностей приведены в табл. 6. Например, последовательность SEQ ID NO: 420 обозначенная как SABA1.1, содержит коровую последовательность SABA1 (SEQ ID NO: 330) с N-концевой последовательностью MGVSDVPRDLE (SEQ ID NO: 371, обозначенной как AdNT1) и C-концевой последовательностью EIDKPSQ (SEQ ID NO: 380, обозначенной как AdCT1). Последовательность SABA1.1 также содержит 6His-тэг на C-конце, однако это должно быть понятно, что последовательность 6His-тэга полностью необязательна и может располагаться в любом месте N- и C-концевых удлиняющих последовательностей, а также может полностью отсутствовать. Любой из примеров N- и C-концевых удлиняющих последовательностей, приведенных в табл. 6 (SEQ ID NO: 371-395), а также любые их варианты, могут быть использованы для модификации коровой последовательности SABA, приведенной в табл. 6.

В определенных вариантах исполнения C-концевые удлиняющие последовательности (также называемые "хвостами") содержат остатки E и D и могут быть длиной 8 и 50, 10 и 30, 10 и 20, 5 и 10 и 2 и 4 аминокислотных остатка. В некоторых вариантах исполнения последовательности "хвостов" включают в себя ED-линкеры, в которых последовательность состоит из tandemных повторов ED. В примерах осуществления изобретения "хвостовые" последовательности содержат 2-10, 2-7, 2-5, 3-10, 3-7, 3-5, 3, 4 или 5 ED-повторов. В определенных вариантах исполнения данные "хвостовые" последовательности на основе ED могут также включать дополнительные аминокислотные остатки, такие как, например: EI, EID, ES, EC, EGS и EGC. Такие последовательности основаны, в части, на известных "хвостовых" последовательностях Аднектина, таких как последовательность EIDKPSQ (SEQ ID NO: 380), в которой остатки D и K удалены. В примерах осуществления изобретения "хвостовые" последовательности, основанные на последовательности ED, содержат остатки E, I или EI перед повторами ED.

В других вариантах исполнения "хвостовые" последовательности могут быть комбинированы с другими известными ликерными последовательностями (например, SEQ ID NO: 396-419 в табл. 6) в случае необходимости при конструировании слитой с SABA молекулы.

Конъюгация/линкеры.

Слитые белки, содержащие SABA, могут быть соединены ковалентно и нековалентно. В некоторых вариантах исполнения домен <sup>10</sup>Fn3, связывающий сывороточный альбумин, может быть ковалентно или нековалентно связан с анти-PCSK9 Аднектином посредством полипептидного линкера. Применимыми линкерами для соединения Fn3 доменов являются те, которые позволяют разделить домены, позволяя независимую укладку и формируя пространственную структуру, способную связывать целевую молекулу с высокой аффинностью.

В данной заявке описывается ряд подходящих линкеров, удовлетворяющих этим критериям, включающий глицин-сериновые линкеры, глицин-пролиновые линкеры, а также линкер с аминокислотной последовательностью PSTSTST (SEQ ID NO: 416). Примеры, описанные в данной заявке, демонстрируют, что домены Fn3, соединенные посредством полипептидных линкеров, сохраняют свойства связывания целевой молекулы. В некоторых вариантах исполнения линкером является глицин-сериновый линкер. Данные линкеры содержат остатки глицина и серина и могут быть длиной между 8 и 50, 10 и 30 и 10 и 20 аминокислотных остатков. Примеры включают линкеры с аминокислотной последовательностью (GS)<sub>7</sub> (SEQ ID NO: 403), G(GS)<sub>6</sub> (SEQ ID NO: 398) и G(GS)<sub>7</sub>G (SEQ ID NO: 400). Другие линкеры содержат глутаминовую кислоту и включают, например последовательности (GSE)<sub>5</sub> (SEQ ID NO: 405) и GGSE GGSE (SEQ ID NO: 409). Другие примеры глицин-сериновых линкеров включают (GS)<sub>4</sub> (SEQ ID NO: 402), (GGGG)<sub>7</sub> (SEQ ID NO: 411), (GGGG)<sub>5</sub> (SEQ ID NO: 412) и (GGGG)<sub>3</sub>G (SEQ ID NO: 413). В некоторых вариантах исполнения линкер является глицин-пролиновым. Такие линкеры содержат остатки глицина и пролина и могут быть длиной между 3 и 30, 10 и 30 и 3 и 20 аминокислотных остатков. Примеры таких линкеров включают линкеры с последовательностями (GP)<sub>3</sub>G (SEQ ID NO: 414), (GP)<sub>5</sub>G (SEQ ID NO: 415) и GPG. В других вариантах исполнения линкер может быть пролин-аланиновым, длиной между 3 и 30, 10 и 30, и 3 и 20 аминокислотных остатков. Примеры пролин-аланиновым линкеров включают последовательности, (PA)<sub>3</sub> (SEQ ID NO: 417), (PA)<sub>6</sub> (SEQ ID NO: 418) и (PA)<sub>9</sub> (SEQ ID NO: 419). Настоящим изобретением предполагается, что оптимальная длина и аминокислотный состав линкера могут быть определены с помощью стандартных экспериментов с учетом сведений, приведенных в данной заявке. В некоторых вариантах исполнения анти-PCSK9 Аднектин соединен с SABA посредством полипептидного линкера, содержащего сайт расщепления протеазы, который может быть расщеплен протеазой в крови или ткани. Такие варианты исполнения могут быть использованы для высвобождения анти-PCSK9 Аднектина с целью облегчения доставки, улучшения терапевтических свойств или более эффективной работы.

Дополнительные линкеры или спейсеры могут быть введены на C-конец домена Fn3 между последовательностью домена Fn3 и последовательностью полипептидного линкера. Дополнительные линкеры или спейсеры могут быть введены на N-конец домена Fn3 между последовательностью домена Fn3 и

последовательностью полипептидного линкера.

В некоторых вариантах исполнения анти-PCSK9 Аднектин может быть прямо или непрямо соединен с SABA посредством полимерного линкера. Полимерные линкеры могут быть использованы для оптимального варьирования расстояния между компонентами слитого белка для создания слитого белка с одной или несколькими следующими характеристиками: 1) сниженным или повышенным стерическим несоответствием связывания одного или более белковых доменов при связывании целевого белка, 2) повышенной стабильностью или растворимостью белка, 3) сниженным уровнем агрегации белка, 4) повышенной общей авидностью или аффинностью белка.

В некоторых вариантах исполнения анти-PCSK9 Аднектин соединен с SABA посредством биосовместимого полимера, такого как полимерный сахар. Такой полимерный сахар может включать сайт расщепления, расщепляемый каким-либо ферментом в крови или в целевой ткани. Такие варианты исполнения могут быть использованы для высвобождения анти-PCSK9 Аднектина для облегчения доставки, улучшения терапевтических свойств или более эффективной наработки.

Сводные данные по последовательностям.

Многие последовательности, на которые ссылаются разделы "Слитые белки на основе Аднектинов, связывающих сывороточный альбумин (SABA)" и "Конъюгирование/линкеры", собраны в табл. 6 ниже. Если не указано обратное, все N-концевые удлиняющие последовательности отмечены с помощью одинарного подчеркивания, все C-концевые "хвосты"/удлиняющие последовательности отмечены с помощью двойного подчеркивания, последовательности линкеров заключены в скобки. Области петель BC, DE и FG затемнены для каждой коровой последовательности SABA. В дополнение к вышеуказанному данные модификации последовательностей (например, N- или C-концевые удлинения и линкеры) также могут быть использованы для модификации молекул анти-PCSK9 Аднектина.

Таблица 6. Сводные данные по примерам последовательностей

EQ ID	Название последовательности	Описание	Последовательность
<b>Примеры Аднектинов, связывающих сывороточный альбумин (SABA)</b>			
27	<sup>10</sup> Fn3WT коровая последовательность дикого типа домена <sup>10</sup> Fn3 человека	Коровая последовательность дикого типа домена <sup>10</sup> Fn3 человека	EVVAATPPTSLLI <sup>u</sup> SWDAPAVTVRYRITYG ETGGNSPVQEF <sup>u</sup> TVPGSKSTATISGLKPGVDY <sup>u</sup> TITV YAVTGRGDS <sup>u</sup> PASSK <sup>u</sup> PISIN <sup>u</sup> YRT
28	<sup>10</sup> Fn3v6	Аналог домена <sup>10</sup> Fn3 содержащий 6 переменных петель	EVVAAT (X) <sub>a</sub> SLLI (X) <sub>x</sub> YYRITYGE (X) <sub>b</sub> QEFTV (X) <sub>y</sub> ATI (X) <sub>c</sub> DYTITVYAV (X) <sub>z</sub> ISIN <sup>u</sup> YRT
29	<sup>10</sup> Fn3v3	Аналог домена <sup>10</sup> Fn3 содержащий 3 переменных петли	EVVAATPPTSLLI (X) <sub>x</sub> YYRITYGETGGNSP VQEFTV (X) <sub>y</sub> ATISGLKPGVDY <sup>u</sup> TITVYAV (X) <sub>z</sub> ISIN <sup>u</sup> YRT
30	SABA1	Коровая последовательность 1 Аднектина	EVVAATPPTSLLI <sup>u</sup> SWHSYYEQNSYYRITYG ETGGNSPVQEF <sup>u</sup> TVPYSQT <sup>u</sup> TATISGLKPGVDY <sup>u</sup> TITV YAVYGSKY <sup>u</sup> YYPISIN <sup>u</sup> YRT
31	SABA1 BC	Коровая последовательность 1 петли BC	HSYYEQNS
32	SABA1 DE	Коровая последовательность 1 петли DE	YSQT
33	SABA1F G	Коровая последовательность 1 петли FG	YGSKY <sup>u</sup> Y

34	SABA2	Коровая последовательность 2 Аднектина	EVVAATPTSL LISWPKYDKTGHYYRITYG ETGGNSPVQEFTVPTRQT TATISGLKPGVDYTTTV YAVSKDDYYPHEHRPISINYRT
35	BC SABA2	Коровая последовательность 2 петли BC	PKYDKTGH
36	DE SABA2	Коровая последовательность 2 петли DE	TRQT
37	G SABA2F	Коровая последовательность 2 петли FG	SKDDYYPHEHR
38	SABA3	Коровая последовательность 3 Аднектина	EVVAATPTSL LISWSNDGPGLSYYRITYG ETGGNSPVQEFTVPSSQT TATISGLKPGVDYTTTV YAVSYT KKAYSAGPISINYRT
39	BC SABA3	Коровая последовательность 3 петли BC	SNDGPGLS
40	DE SABA3	Коровая последовательность 3 петли DE	SSQT
41	G SABA3F	Коровая последовательность 3 петли FG	SYT KKAYSAG
42	SABA4	Коровая последовательность 4 Аднектина; содержащая мутации в структурной части (выделены жирным шрифтом); структурно-лучший вариант SABA5	<b>EM</b> VVAATPTSL LISWEDDSYYSRYRITYG ETGGNSPVQEFTVP SDLYTATISGLKPGVDYTTTV YAVTYDVTDLIMHEPISINYRT

43	BC	SABA4	Коровая последовательность 4 петли BC	EDDSYYSR
44	DE	SABA4	Коровая последовательность 4 петли DE	SDLY
45	G	SABA4F	Коровая последовательность 4 петли FG	YDVTDLIMHE
46		SABA5	Коровая последовательность 5 Аднектина; см. описание для SABA4; корректированные остатки выделены жирным	<b>EVVAATPTSLLISWEDDSYYSRYRITYG</b> ETGGNSPVQEFTVPSDLYTATISGLKPGVDYTTIV YAVTYDVTDLIMHEPISINVRT
47	BC	SABA5	Коровая последовательность 5 петли BC	EDDSYYSR
48	DE	SABA5	Коровая последовательность 5 петли DE	SDLY
49	G	SABA5F	Коровая последовательность 5 петли FG	YDVTDLIMHE
50		SABA6	Коровая последовательность 6 Аднектина	EVVAATPTSLLISWYMDEYDVRYRITYG ETGGNSPVQEFTVPNYYNTATISGLKPGVDYTTIV YAVTRIKANNMYGPIISINVRT
51		SABA7	Коровая последовательность 7 Аднектина	EVVAATPTSLLISWNHLEHVARYRITYG ETGGNSPVQEFTVPEYPTTATISGLKPGVDYTTIV YAVTITMLKYPTQSPISINVRT
52		SABA8	Коровая последовательность 8 Аднектина	EVVAATPTSLLISWGHYRRSGHYRITYG ETGGNSPVQEFTVDPSSYTATISGLKPGVDYTTIV YAVSKDDYYPHEHRPISINVRT



53	SABA9	Коровая последовательность 9 Аднектина	EVVAATPTSLLISWDASHYERRYRITYG ETGGNSPVQEEFTVPRYHHTATISGLKPGVDYTTITV YAVTQAQEHYQPPISINYRT
54	SABA10	Коровая последовательность 10 Аднектина	EVVAATPTSLLISWNSYHHSADYYRITYG ETGGNSPVQEEFTVPPYPTTATISGLKPGVDYTTITV YAVYSAKSYYPISINYRT
55	SABA11	Коровая последовательность 11 Аднектина	EVVAATPTSLLISWSKYSKKGHYRITYG ETGGNSPVQEEFTVPSGNATATISGLKPGVDYTTITV YAVEDTNDYPHTRPISINYRT
56	SABA12	Коровая последовательность 12 Аднектина	EVVAATPTSLLISWHGEPDQTRYRITYG ETGGNSPVQEEFTVPPYRRTATISGLKPGVDYTTITV YAVTSGYTGHYQPISINYRT
57	SABA13	Коровая последовательность 13 Аднектина	EVVAATPTSLLISWSKYSKKGHYRITYG ETGGNSPVQEEFTVDPSSYTATISGLKPGVDYTTITV YAVSKDDYYPHEHRPISINYRT
58	SABA14	Коровая последовательность 14 Аднектина	EVVAATPTSLLISWYEPYTPIHYYRITYG ETGGNSPVQEEFTVPGYYGTATISGLKPGVDYTTITV YAVYGYQYTPISINYRT
59	SABA15	Коровая последовательность 15 Аднектина	EVVAATPTSLLISWSKYSKKGHYRITYG ETGGNSPVQEEFTVPSGNATATISGLKPGVDYTTITV YAVSDDNKYYHQHRPISINYRT
60	SABA16	Коровая последовательность 16 Аднектина	EVVAATPTSLLISWGHYRRSGHYRITYG ETGGNSPVQEEFTVDPSSYTATISGLKPGVDYTTITV YAVSKDDYYPHEHRPISINYRT
61	SABA17	Коровая последовательность 17 Аднектина	EVVAATPTSLLISWSKYSKKGHYRITYG ETGGNSPVQEEFTVPSGNATATISGLKPGVDYTTITV YAVEDTNDYPHTRPISINYRT
62	SABA18	Коровая последовательность 18 Аднектина	EVVAATPTSLLISWYEPGASVYYYRITYG ETGGNSPVQEEFTVPSYYHTATISGLKPGVDYTTITV YAVYGYEYEPISINYRT
63	SABA19	Коровая последовательность 19 Аднектина	EVVAATPTSLLISWQSYAHSDYYRITYG ETGGNSPVQEEFTVPPQTATISGLKPGVDYTTITV YAVYAGSSYYYPISINYRT

64	SABA20	Коровая последовательность 20 Аднектина	EVVAATPTSL LISWGHYRRSGHYRITYG ETGGNSPVQEFTVDPSSYTATISGLKPGVDYTITV YAVSKDDYYPHEHRPISINRYT
65	SABA21	Коровая последовательность 21 Аднектина	EVVAATPTSL LISWPEPGTPVYYYRITYG ETGGNSPVQEFTVPAYYGTATISGLKPGVDYTITV YAVYGYDYSPISINRYT
66	SABA22	Коровая последовательность 22 Аднектина	EVVAATPTSL LISWYRYEKTQHYYRITYG ETGGNSPVQEFTVPPESGTATISGLKPGVDYTITV YAVYAGYEYPHTHRPISINRYT
67	SABA23	Коровая последовательность 23 Аднектина	EVVAATPTSL LISWVKSEEEYRYRITYG ETGGNSPVQEFTVPYYVHTATISGLKPGVDYTITV YAVTEYYYAGAVVSPISINRYT
68	SABA24	Коровая последовательность 24 Аднектина	EVVAATPTSL LISWYDPYTYGSYYRITYG ETGGNSPVQEFTVGPYTTTATISGLKPGVDYTITV YAVSYYSTQPISINRYT
69	SABA25	Коровая последовательность 25 Аднектина	EVVAATPTSL LISWSNDGPGLSYYRITYG ETGGNSPVQEFTVPSSQTATISGLKPGVDYTITV YAVSYTCKAYSAGPISINRYT
70	SABA26	Коровая последовательность 26 Аднектина	EVVAATPTSL LISWDPYKPDYYRITYG ETGGNSPVQEFTVPRDYTTATISGLKPGVDYTITV YAVSYYGYYPI SINRYT
<b>Примеры последовательностей N-концевых удлинений Аднектинов</b>			
71	AdNT1	Пример лидерной последовательности	MGVSDVPRDL
72	AdNT2	Пример лидерной последовательности	GVSDVPRDL
73	AdNT3	Пример лидерной последовательности	VSDVPRDL
74	AdNT4	Пример лидерной последовательности	SDVPRDL

75	AdNT5	Пример лидерной последовательности	DVPRDL
76	AdNT6	Пример лидерной последовательности	VPRDL
77	AdNT7	Пример лидерной последовательности	PRDL
78	AdNT8	Пример лидерной последовательности	RDL
79	AdNT9	Пример лидерной последовательности	DL
<b>Примеры последовательностей С-концевых удлинений Аднектинов</b>			
80	AdCT1	Пример «хвостовой» последовательности	EIDKPSQ
81	AdCT2	Пример «хвостовой» последовательности	EIDKPS
82	AdCT3	Пример «хвостовой» последовательности	EIDKPC
83	AdCT4	Пример «хвостовой» последовательности	EIDKP
84	AdCT5	Пример «хвостовой» последовательности	EIDK
85	AdCT6	Пример «хвостовой» последовательности	EI

86	AdCT7	Пример «хвостовой» последовательности	EIEKPSQ
87	AdCT8	Пример «хвостовой» последовательности	EIDKPSQLE
88	AdCT9	Пример «хвостовой» последовательности	EIEDEDEDEDED
89	AdCT10	Пример «хвостовой» последовательности	EIEKPSQEDEDEDEDED
90	AdCT11	Пример «хвостовой» последовательности	EGSGS
91	AdCT12	Пример «хвостовой» последовательности	EIDKPCQ
92	AdCT13	Пример «хвостовой» последовательности	EIEKPCQ
93	AdCT14	Пример «хвостовой» последовательности	GSGC
94	AdCT15	Пример «хвостовой» последовательности	EGSGC
95	AdCT16	Пример «хвостовой» последовательности	EIDKPCQLE
96	L1	G(GS) <sub>2</sub>	GGSGS
97	L2	G(GS) <sub>4</sub>	GGSGSGSGS

98	L3	G(GS) <sub>6</sub>	GGSGSGSGSGSGS
99	L4	G(GS) <sub>7</sub>	GGSGSGSGSGSGSGS
00	L5	G(GS) <sub>7</sub> G	GGSGSGSGSGSGSGSG
01	L6	GSGS	GSGS
02	L7	(GS) <sub>4</sub>	GSGSGSGS
03	L7	(GS) <sub>7</sub>	GSGSGSGSGSGSGS
04	L9	GS(A)9GS	GSAAAAAAAAAGS
05	L10	(GSE) <sub>5</sub>	GSEGSEGESEGESE
06	L11	(PAS) <sub>5</sub>	PASPASPASPASPAS
07	L12	(GSP) <sub>5</sub>	GSPGSPGSPGSPGSP
08	L13	GS(TVAAPS) <sub>2</sub>	GSTVAAPSTVAAPS
09	L14	(GGSE) <sub>2</sub>	GGSEGGSE
10	L15	(ST) <sub>3</sub> G	STSTSTG
11	L16	(GGGS) <sub>7</sub>	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG SGGGGS
12	L17	(GGGS) <sub>5</sub>	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG S
13	L18	(GGGS) <sub>3</sub> G	GGGSGGGSGGGSGG

14	L19	(GP) <sub>3</sub> G	GPGPGPG
15	L20	(GP) <sub>5</sub> G	GPGPGPGPGPG
16	L21	P(ST) <sub>3</sub>	PSTSTST
17	L22	(PA) <sub>3</sub>	PAPAPA
18	L23	(PA) <sub>6</sub>	PAPAPAPAPAPA
19	L24	(PA) <sub>9</sub>	PAPAPAPAPAPAPAPAPA
<b>Примеры удлинений коровых последовательностей Аднектинов</b>			
20	1	SABA1. Коровая последовательность 1 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWHSY</u> YE QNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGL KPGVDYTTITVYAVYGSKYYPISINRTE <u>EIDKPSQ</u> HHHHHH
21	2	SABA1. Коровая последовательность 1 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT8	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWHSY</u> YE QNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGL KPGVDYTTITVYAVYGSKYYPISINRTE <u>IEIEDEDE</u> <u>DEDED</u>
22	3	SABA1. Коровая последовательность 1 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT9 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLSWHSY</u> YE QNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGL KPGVDYTTITVYAVYGSKYYPISINRTE <u>IEIEDEDE</u> <u>DEDEDHHHHHH</u>

23	1	SABA2. Коровая последовательность 2 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWPKYDK</u> TGHYRITYGETGGNSPVQEFVTRQTATISGL KPGVDYITVYAVSKDDYYPHEHRPISINYTEID <u>KPSQHNNNNH</u>
24	1	SABA3. Коровая последовательность 3 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWSDNGP</u> GLSYYRITYGETGGNSPVQEFVPSQTATISGL KPGVDYITVYAVSYTKKAYSAGPISINYTEID <u>KPSQHNNNNH</u>
25	1	SABA4. Коровая последовательность 4 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEMVAATPTSL LISWEDDSY</u> YSRYRITYGETGGNSPVQEFVPSDLYTATISGL KPGVDYITVYAVTYDVTDLIMHEPISINYTEID <u>KPSQHNNNNH</u>
26	1	SABA5. Коровая последовательность 5 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWEDDSY</u> YSRYRITYGETGGNSPVQEFVPSDLYTATISGL KPGVDYITVYAVTYDVTDLIMHEPISINYTEID <u>KPSQHNNNNH</u>

27	1	SABA6. Коровая последовательность 6 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWY</u> MDEY DVRYYRITYGETGGNSPVQEFTVPNYNTATISGL KPGVDYTTITVYAVTRIKANNYMGPI SINYRTE <u>ID</u> <u>KPSQH</u> HHHHH
28	1	SABA7. Коровая последовательность 7 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWNH</u> LEH VARYRITYGETGGNSPVQEFTVPEYPTTATISGL KPGVDYTTITVYAVTITMLKYPTQSPISINYRTE <u>ID</u> <u>KPSQH</u> HHHHH
29	1	SABA8. Коровая последовательность 8 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWGH</u> YRR SGHYRITYGETGGNSPVQEFTVDPSSYTATISGL KPGVDYTTITVYAVSKDDYPHEHRPISINYRTE <u>ID</u> <u>KPSQH</u> HHHHH
30	1	SABA9. Коровая последовательность 9 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDASH</u> Y ERRYYRITYGETGGNSPVQEFTVPRYHNTATISGL KPGVDYTTITVYAVTQAQEHYQPPI SINYRTE <u>IDKP</u> <u>SQH</u> HHHHH



31	.1	SABA10	Коровая последовательность 10 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWNSYYH</u> SADYYRITYGETGGNSPVQEFVPPPTTATISGL KPGVDYTTITVYAVYSAKSYYPISINRTE <u>IDKPSQ</u> HHHHHH
32	.1	SABA11	Коровая последовательность 11 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSKYSK</u> HGYYRITYGETGGNSPVQEFVPSGNATATISGL KPGVDYTTITVYAVEDTNDYPHTHRPISINRTE <u>ID</u> <u>KPSQ</u> HHHHHH
33	.1	SABA12	Коровая последовательность 12 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHGEPD</u> QTRYRITYGETGGNSPVQEFVPPYRRTATISGL KPGVDYTTITVYAVTSGYTGHYQPISINRTE <u>IDKP</u> <u>SQ</u> HHHHHH
34	.1	SABA13	Коровая последовательность 13 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWSKYSK</u> HGYYRITYGETGGNSPVQEFVDPSSYTATISGL KPGVDYTTITVYAVSKDDYYPHEHRPISINRTE <u>ID</u> <u>KPSQ</u> HHHHHH

35	.1	SABA14	Коровая последовательность 14 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLE</u> VVAATPTSL <sup>LI</sup> SWYEPYT PIHYYRITYGETGGNSPVQEFTVPGYYGTATISGL KPGVDYTITVYAVYGYQYTPISIN <sup>YRTE</sup> <u>IDKPSQ</u> HHHHHH
36	.1	SABA15	Коровая последовательность 15 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLE</u> VVAATPTSL <sup>LI</sup> SWSKYSK HGYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSGNATATISGL KPGVDYTITVYAVSDDNKYYHQHRPISIN <sup>YRTE</sup> <u>ID</u> <u>KPSQ</u> HHHHHH
37	.1	SABA16	Коровая последовательность 16 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLE</u> VVAATPTSL <sup>LI</sup> SWGHYRR SGYYRITYGETGGNSPVQEFTVDPSSYTATISGL KPGVDYTITVYAVSKDDYYPHEHRPISIN <sup>YRTE</sup> <u>ID</u> <u>KPSQ</u> HHHHHH
38	.1	SABA17	Коровая последовательность 17 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLE</u> VVAATPTSL <sup>LI</sup> SWSKYSK HGYYRITYGETGGNSPVQEFTVPSGNATATISGL KPGVDYTITVYAVEDTNDYPH <sup>TR</sup> HPISIN <sup>YRTE</sup> <u>ID</u> <u>KPSQ</u> HHHHHH

39	.1	SABA18	Коровая последовательность 18 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWYEPGA</u> SVYYYRITYGETGGNSPVQEF <del>T</del> VP <del>S</del> YHTATISGL KPGVDY <del>T</del> ITVYAVYGYEYEPISIN <del>YRTE</del> <u>EIDKPSQ</u> НННННН
40	.1	SABA19	Коровая последовательность 19 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWQSYYA</u> HSDYRITYGETGGNSPVQEF <del>T</del> VPYPPQTATISGL KPGVDY <del>T</del> ITVYAVYAGSSYPISIN <del>YRTE</del> <u>EIDKPSQ</u> НННННН
41	.1	SABA20	Коровая последовательность 20 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWGHYRR</u> SGHYRITYGETGGNSPVQEF <del>T</del> VPSSYTATISGL KPGVDY <del>T</del> ITVYAVSKDDYPHEHRPISIN <del>YRTE</del> <u>EID</u> <u>KPSQ</u> НННННН
42	.1	SABA21	Коровая последовательность 21 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSLLLISWPEPGT</u> PVYYYRITYGETGGNSPVQEF <del>T</del> VPAYYGTATISGL KPGVDY <del>T</del> ITVYAVYGYDYSPISIN <del>YRTE</del> <u>EIDKPSQ</u> НННННН

43	.1	SABA22	Коровая последовательность 22 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWYRYEK</u> TQHYYRITYGETGGNSPVQEF T V P P E S G T A T I S G L K P G V D Y T I T V Y A V Y A G Y E Y P H T H R P I S I N Y R T E I D <u>K P S Q H N H H H H H</u>
44	.1	SABA23	Коровая последовательность 23 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWVKSEE</u> Y Y R Y R I T Y G E T G G N S P V Q E F T V P Y V V H T A T I S G L K P G V D Y T I T V Y A V T E Y Y A G A V V S V P I S I N Y R T E I <u>D K P S Q H N H H H H H</u>
45	.1	SABA24	Коровая последовательность 24 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDPYT</u> Y G S Y Y R I T Y G E T G G N S P V Q E F T V G P Y T T T A T I S G L K P G V D Y T I T V Y A V S Y Y Y S T Q P I S I N Y R T E I D K P S Q H N H H H H H
46	.1	SABA25	Коровая последовательность 25 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWSNDGP</u> G L S Y Y R I T Y G E T G G N S P V Q E F T V P S S Q T T A T I S G L K P G V D Y T I T V Y A V S Y Y T K K A Y S A G P I S I N Y R T E I D <u>K P S Q H N H H H H H</u>
47	.1	SABA26	Коровая последовательность 26 Аднектина, содержащая концевые последовательности AdNT1 и AdCT1 с His6-тэгом	<u>MGVSDVPRDLEVVAATPTSL LISWDPY Y</u> K P D Y Y R I T Y G E T G G N S P V Q E F T V P R D Y T T A T I S G L K P G V D Y T I T V Y A V Y S Y Y G Y P I S I N Y R T E I D K P S Q H N H H H H H

### Примеры

#### Пример 1.

Материалы и методы, использованные для данного изобретения.

Технология высокопроизводительной наработки белка (HTPP). Отобранные последовательности, кодирующие связывающие белки, были клонированы в вектор pET9d и трансформированы в клетки E.coli штамма HMS174. Далее клетки инокулировали в 5 мл среды LB, содержащей канамицин в концентрации 50 мкг/мл, в 24-луночные планшеты и инкубировали при 37°C в течение ночи. Для подготовки к индукции экспрессии 200 мкл ночной культуры переносили в 5 мл свежей среды LB (50 мкг/мл канамицина) в новой лунке. Культуры растили при 37°C до оптической плотности  $A_{600}$  0,6-0,9. Затем индуцировали экспрессию внесением изопропил-β-тиогалактозида до концентрации 1 mM и инкубировали при 30°C в течение 6 ч, после чего собирали клетки центрифугированием в течение 10 мин при ускорении 2750 g и 4°C.

Клетки осадков (в 24-луночном планшете) были лизированы путем добавления 450 мкл лизирующего буфера (50 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.5M NaCl, 1× Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA в свободном виде (Roche), 1 mM PMSF, 10 mM CHAPS, 40 mM Имидазола, 1 мг/мл лизоцима, 30 мкг/мл ДНКазы, 2 мкг/мл апротонина, pH 8.0) и перемешивания при комнатной температуре в течение 1-3 ч. Лизаты осветляли и

переводили в 9-луночный формат путем фильтрования при повышенном давлении через 96-луночный фильтр Whatman GF/D UNIFILTER® с 96-луночным планшетом для сбора объемом 1,2 мл. Осветленные лизаты переносили в 96-луночный планшет с Ni-хелатирующей смолой, уравновешенной буфером: 50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5M NaCl, 40 mM Имидазола, pH 8.0, и инкубировали в течение 5 мин. Не связавшиеся вещества удаляли под вакуумом. Смолу дважды по 0,3 мл/лунку промывали Отмывочным буфером № 1 (50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5M NaCl, 5 mM CHAPS, 40 mM имидазола, pH 8.0) под действием вакуума. До элюции в каждую лунку вносили 50 мкл элюирующего буфера (PBS + 20 mM ЭДТА), инкубировали в течение 5 мин и удаляли при помощи вакуума. Белок элюировали добавляя дополнительные 100 мкл элюирующего буфера в каждую лунку. После 30 мин инкубации при комнатной температуре планшет(ы) центрифугировали в течение 5 мин при 200g, при этом элюируемый белок собирали с помощью 96-ти луночного планшета для сбора, содержащего по 5 мкл 0,5M MgCl<sub>2</sub> на дне лунок. Количество элюированного белка измеряли с помощью стандартного ВСА-анализа с использованием SGE в качестве стандарта.

Среднемасштабная экспрессия и очистка нерастворимых связывающих белков на основе структурных частей фибронектина.

Для экспрессии последовательностей клонов, продуцирующих нерастворимые белки, последовательности клона(ов) с 6His-тэгом на конце клонируют в вектор pET9d (EMD Bioscience, San Diego, CA) и экспрессируют в клетках E.coli штамма HMS174. Для этого в 1 л среды LB, содержащей 50 мкг/мл карбенциклина и 34 мкг/мл хлорамфеникола, инокулируют 20 мл культуры клеток (полученной с одной колонии, выращенной рассевом на одной чашке). Культуру инкубируют при 37°C до достижения оптической плотности A<sub>600</sub> 0,6-1,0. После индукции экспрессии добавлением 1 mM изопропил-β-тиогалактозида (IPTG) культуру инкубируют в течение 4 ч при 30°C и собирают клетки центрифугированием в течение 30 мин при ускорении ≥10,000 g при 4°C. Осадки клеток замораживают при -80°C. Затем клеточные осадки ресуспендируют в 25 мл лизирующего буфера (20 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5M NaCl, 1× Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA в свободном виде (Roche), 1 mM PMSF, pH 7.4) используя гомогенизатор ULTRA-TURRAX® (IKA) на льду. Лизирование клеток достигают с помощью высокого давления в гомогенизаторе (>18,000 psi), используя Model M-110S MICROFLUIDIZER® (Microfluidics). Нерастворимую фракцию отделяют центрифугированием в течение 30 мин при ускорении 23,300 g при 4°C. Полученный осадок отмывают буфером с 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl, pH 7.4. Затем осадок растворяют в 6,0M растворе гидрохлорида гуанидина в буфере, содержащем 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl, pH 7.4 при обработке ультразвуком и последующей инкубацией при 37°C в течение 1-2 ч. Растворенный осадок фильтруют через фильтры с размером пор 0,45 мкм и наносят на колонку Histrap, предварительно уравновешенную буфером с 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl/6,0 M гуанидина, pH 7.4. После нанесения, колонку отмывают 25 объемами колонки буфера для уравновешивания. Связавшийся белок элюируют буфером с 50 mM имидазола и содержащем 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl/6,0M гуанидин-хлорида, pH 7.4. Далее проводят рефолдинг очищенного белка путем диализа против буфера с 50 mM ацетата натрия/150 mM NaCl, pH 4,5.

Среднемасштабная экспрессия и очистка растворимых связывающих белков на основе структурных частей фибронектина.

Для экспрессии последовательностей клонов, продуцирующих нерастворимые белки, последовательности клона(ов) с 6His-тэгом на конце были клонированы в вектор pET9d (EMD Bioscience, San Diego, CA) и экспрессированы в клетках E.coli штамма HMS174. Для этого в 1 л среды LB, содержащей 50 мкг/мл карбенциклина и 34 мкг/мл хлорамфеникола, инокулировали 20 мл культуры клеток (полученной с одной колонии, выращенной рассевом на одной чашке). Культуру инкубировали при 37°C до достижения оптической плотности A<sub>600</sub> 0,6-1,0. После индукции экспрессии добавлением 1 mM изопропил-β-тиогалактозида (IPTG) культуру инкубировали в течение 4 ч при 30°C и собирали клетки центрифугированием в течение 30 мин при ≥10,000 g при 4°C. Осадки клеток замораживали при -80°C. Затем клеточные осадки ресуспендировали в 25 мл лизирующего буфера (20mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5M NaCl, 1× Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA в свободном виде (Roche), 1mM PMSF, pH 7.4) используя гомогенизатор ULTRA-TURRAX® (IKA) на льду. Лизирование клеток достигали с помощью высокого давления в гомогенизаторе (≥18,000 psi), используя Model M-110S MICROFLUIDIZER® (Microfluidics). Растворимую фракцию отделяли центрифугированием в течение 30 мин при ускорении 23,300 g при 4°C. Полученный супернатант осветляли фильтрованием через фильтр с размером пор 0,45 мкм. Осветленный лизат наносили на колонку Histrap (GE), предварительно уравновешенную буфером с 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl, pH 7.4. После нанесения колонку отмывали 25 объемами колонки буфера для уравновешивания, содержащего 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl, pH 7.4, с последующей промывкой 20 объемами буфера, содержащего 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl/25 mM имидазола, pH 7.4, с последующей промывкой 35 объемами буфера, содержащего 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl/40 mM имидазола, pH 7.4. Белок элюировали 15 объемами колонки буфера, содержащего 20 mM фосфата натрия/500 mM NaCl/500 mM имидазола, pH 7.4. Фракции объединяли на основе поглощения при длине волны 280 нм и диализовали против буферов 1× PBS, 50 mM Tris, 150 mM NaCl. pH 8.5 или 50 mM NaOAc; 150 mM NaCl; pH 4.5. Любой осадок удаляли путем фильтрования через фильтр с размером пор 0,22 мкм.

Пример 2. Доклиническая фармакология *in vitro*.

Измерение  $K_D$  методом SPR.

Характеристики связывания были определены методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR). PCSK9 человека и яванского макака были иммобилизованы в отдельных каналах в одном измерении на поверхностях чипа ProteOn XPR (Bio-Rad) и обработаны 6 различными концентрациями 2013E01 в другом измерении поверхности того же SPR-чипа. Это позволило определить кинетику в отсутствие регенерации. Для определения кинетики PCSK9 человека и яванского макака при 25°C эксперимент проводился в двух повторах. Оценка кинетических параметров была осуществлена с помощью модели взаимодействия Лэнгмюра и постоянных параметров поборки кривой по точкам программного обеспечения ProteOn Manager.

В этих условиях анти-PCSK9 Аднектины связываются с PCSK9 человека с константами диссоциации ( $K_D$ ) в диапазоне от 80 пМ до 1,6 нМ и с PCSK9 яванского макака с константами диссоциации ( $K_D$ ) в диапазоне от 8 до 24 нМ (табл. 7). Скорости ассоциации примерно оценивались как  $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , одновременно со скоростями диссоциации, которые составляли обычно  $10^{-3}$ -  $10^{-5} \text{ s}^{-1}$ . Для некоторых Аднектинов скорости диссоциации от PCSK9 человека были низкими (порядка  $10^{-5} \text{ s}^{-1}$ ), что близко к пределу детекции с помощью технологии SPR. Таким образом, возможно, что данные константы диссоциации от PCSK9 человека ниже приводимой оценки.

Таблица 7. Кинетические параметры анти-PCSK9 Аднектина по отношению к иммобилизованным на прямую PCSK9 человека и яванского макака, определенные с помощью технологии SPR

ID клона	организм- источник PCSK9	$k_{\text{on}}$ ( $\text{M}^{-1}$ $\text{s}^{-1}$ )	$k_{\text{off}}$ ( $\text{s}^{-1}$ )	$K_D$ (нМ)
14 59D05	человек	1.13E+05	1.80E-04	1.58 ± 0.176
20 13E01	человек	7.03 ± 0.1 E+05	2.42 ± 0.3 E-05	0.292 ± 0.008
20 13E01	яванский макак	2.19 E+05	1.77 E- 03	8.1
19 22G04	человек	5.41E+05	5.08E-05	0.094 ± 0.009
19 22G04	яванский макак	4.65E+05	7.00E-03	15.03
20 11H05	человек	1.18E+05	9.76E-06	0.079 ± 0.038
20 11H05	яванский макак	1.90E+05	4.40E-03	23.1
20 12A04	человек	2.59E+05	6.47E-05	0.251 ± 0.011
20 12A04	яванский макак	1.95E+05	4.75E-03	24.32

Измерения  $K_D$  методом BLI.

Характеристики связывания Аднектинов и PCSK9 человека также определялись методом Bio-Layer Interferometry (BLI). Биотинилированный PCSK9 человека был иммобилизован на сенсорных наконечниках, покрытых суперстрептавидином, который затем погружали в лунки, содержащие разведения Аднектина на время, необходимое для связывания. Затем наконечники помещали в лунки, заполненные чистым буферным раствором для наблюдения диссоциации Аднектина. Эксперименты проводили при контролируемой температуре, либо при 25°C, либо при 37°C. Установленная частота колебаний составляла 1500 об/мин.

Анализ связывания проводился с использованием соответствующего программного обеспечения от компании Fortebio (Fortebio Data Analysis Software version 6.3.0.36). Общее соответствие кривой было построено для всех образцов, используя модель связывания 1:1. На основе этих общих соответствий была получена пара скоростей ассоциации и диссоциации, которые соответствовали друг другу. Значения аффинности ( $K_D$ ), скоростей ассоциации и диссоциации были усреднены для различных уровней нагрузки, использовавшихся в анализе. При данных условиях Аднектины связывают PCSK9 человека с аффинностью в диапазоне от 200 пМ до 7.5 нМ, как показано в табл. 8 ниже. Скорости ассоциации варьировали в пределах  $10^4$  -  $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  и соответствовали диссоциации, которая обычно составляла  $10^{-3}$  -  $10^{-5} \text{ s}^{-1}$ .

Таблица 8. Кинетические параметры связывания PCSK9 Аднектинов с PCSK9 человека, определенные с помощью метода BLI

ID клона или номер АТИ	$k_{on}$ ( $M^{-1} c^{-1}$ )	$k_{off}$ ( $c^{-1}$ )	$K_D$ (нМ)
2381D04	2.66E+05 ± 6.4 E+04	6.90E-05 ± 6.9 E-05	0.237 ± 0.08
2382D09	5.33E+05	1.64E-04	0.304
2382D05	5.05E+05 ± 2.0E+05	1.57E-04 ± 4.2E-05	0.314 ± 0.06
2381B04	3.09E+05 ± 2.1E+04	1.60E-04 ± 1.6E-04	0.527 ± 0.11
2382E05	4.36E+05 ± 1.6E+05	2.50E-04 ± 1.1E-05	0.604 ± 0.21
2382B09	4.51E+05 ± 4.7E+04	2.91E-04 ± 4.0E-05	0.656 ± 0.02
2382H03	4.71E+05 ± 1.4E+05	5.57E-04 ± 2.3E-04	0.677 ± 0.02
2382C09	3.49E+05	2.33E-04	0.757
2971A03	5.74E+05	4.20E-04	0.806
2382G04	4.19E+05	4.64E-04	1.11
2381G09	2.71E+05	2.91E-04	1.12
2451C06	3.47E+05 ± 5.4E+04	4.35E-04 ± 5.4E+04	1.27 ± 0.14
2382H10	2.88E+05	3.82E-04	1.40
2013E01	5.46E+05	8.37E-04	1.51
2382D03	3.54E+05	6.63E-04	1.53

2381F11	3.23E+05	5.22E-04	1.59
2971E02	3.55E+05	5.55E-04	1.78
2382H09	2.51E+05	4.83E-04	1.86
2451H07	4.48E+05	9.40E-04	2.08
2382B10	3.94E+05	9.77E-04	2.35
2382C05	3.68E+05	8.79E-04	2.49
2971A09	3.99E+05	1.05E-03	2.79
2382E03	2.20E+05	5.96E-04	2.94
2381H09	1.36E+05	4.60E-04	3.23
2381B02	2.65E+05	8.31E-04	3.29
2381B08	2.13E+05	9.40E-04	4.11
2382F05	2.44E+05	1.09E-03	4.54
1459D05	1.49E+05 ± 2.5E+04	2.02E-03 ± 2.0E-03	14.4 ± 0.2
ATI 1091	2.863E+05	8.201E-05	0.293
ATI001117	1.451E+05	5.074E-05	0.554
ATI001057	5.325E+05	1.403E-04	0.255
ATI001119	8.190E+04	4.450E-04	5.296
<sup>1</sup> ATI001168	5.829E+05	3.335E-04	0.586
<sup>2</sup> ATI001175	6.558E+05	3.522E-04	0.543
ATI 1081	8.29E+05 ± 8.1E+05	3.49E-04 ± 3E-04	0.479 ± 0.11
ATI891	1.08E+05	4.03E-04	3.56
ATI1114	8.072E+04	3.952E-04	4.876
ATI1174	1.265E+05	9.012E-04	7.397

<sup>1</sup> ATI001168 представляет собой деиммунизированный вариант 1922G04 с заменой R23E.

<sup>2</sup> ATI001175 представляет собой деиммунизированный вариант 1922G04 с заменой R23D.

Аффинность в растворе.

KinExA.

Аффинность ATI001081 и ATI001174 к PCSK9 человека в растворе была измерена с использованием Kinetic Exclusion Assay (KinExA). Относительные концентрации несвязанного Аднектина были измерены при связывании с твердой подложкой с иммобилизованным hPCSK9 и последующей детекции с помощью флуоресцентно меченых антител, распознающих структурные области Аднектина. Вследствие технических ограничений наименьшая измеряемая концентрация Аднектинов составляла 1 нМ. Величина  $K_D$  для ATI001081 составляла 70 пМ (28-127 пМ 95% доверительный интервал), а для ATI001174 - 223 пМ (54-585 пМ 95% доверительный интервал) по результатам общего анализа  $K_D$ .

Таблица 9. Измерения аффинности Аднектинов к PCSK9 в растворе

	ATI0 01081	ATI0 01174
$K_D$	69.5 пМ	223 пМ
95% доверительный интервал:		
Kd высокая	127 пМ	585 пМ
Kd низкая	28 пМ	54 пМ



ИТС.

Стехиометрия и термодинамика связывания Аднектинов АТ1001174 с АТ1001081 PCSK9 человека были охарактеризованы с использованием метода изотермической титрационной калориметрии (ИТС). Измерения связывания в растворе проводились в буфере, содержащем 25 мМ HEPES, pH 7.41, 150 мМ NaCl при 37°C. Наблюдали значение средней одномолекулярной константы связывания в диапазоне  $1.3 \pm 0.2$  нМ для АТ1001174 и  $1.4 \pm 0.4$  нМ для АТ1001081. Подробный термодинамический анализ приведен в табл. 10 и на фиг. 13. Различия в наблюдаемой энтальпии (-3,3 ккал/моль) для двух данных Аднектинов предполагают, что снижение величины на порядок происходит вследствие пггилирования АТ1001174, что, по меньшей мере, частично, компенсируется соответствующей разницей в энтропии (-10,4 ккал/моль К)

Таблица 10

Аднектин	Стехиометрия (N)	$K_A$ ( $M^{-1}$ )	$K_D$ (нМ)	$\Delta H$ (ккал/моль)	$\Delta S$ (кал/моль °C)
АТ1001081	0.926	$7.1E8$ $\pm 2.1E8$	$1.4 \pm$ $0.4 (\pm 30\%)$	$-26.6 \pm 0.2$	-45.4
АТ1001174*	0.857	$7.5E8$ $\pm 1.5E8$	$1.3 \pm$ 0.2	$-29.9 \pm 0.1$	-55.8

среднее после трех экспериментов.

Анализ на основе флуоресцентного резонансного переноса энергии (FRET).

Были разработаны три системы на основе FRET для определения аффинности связывания и потенциала PCSK9-связывающих Аднектинов, адаптированные к общему методу, описанному Maio et al. (See Miao B. et al., Meth. Enzymol., 357:180-188 (2002)). FRET-анализ PCSK9:EGFA (фиг. 2 и 3) измерял ингибирование связывания PCSK9 с рецептором липопротеинов низкой плотности (РЛПНП) гомологичным доменом предшественника эпидермального фактора роста (EGFA доменом), с использованием рекомбинантного PCSK9 человека, экспрессированного в бакуловирусной системе, и синтетического 40-членного пептида EGFA (биотинилированного). Показано, что EGFA является ключевым доменом взаимодействия РЛПНП с PCSK9 (Kwon H.J. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 105(6):1820-1825 (2008)). В данном анализе использовалось моноклональное антитело (mAb 4H5), связывающее С-концевой домен PCSK9, меченое Eu-хелатором, для обеспечения FRET-взаимодействия с биотинилированным EGFA за счет комплекса стрептавидин/аллофикоцианиновый флуорофор.

Также были сконструированы два других, похожих, PCSK9-зависимых FRET-системы для анализа. В одной из этих систем количественно измерялось конкурентное замещение биотинилированных Аднектинов АТ1000972 или АТ1001125 Аднектинами (результаты для АТ1000972 показаны на фиг. 4). АТ1000972 представляет собой биотинилированный вариант 1459D05, а АТ1001125 - биотинилированный вариант АТ1001081. В другой системе анализировалось прямое связывание Аднектина (с His-тэгом) с PCSK9, с использованием анти-6His-тэг антитела (фиг. 5). В каждой из данных аналитических FRET-систем концентрация PCSK9 человека составляла 1 или 5 нМ. В некоторых случаях PCSK9 человека был заменен на PCSK9 яванского макака. В табл. 11 представлены сводные данные, полученные с помощью всех трех FRET-систем.

Таблица 11. Сводные данные по тестированию Аднектинов с помощью 3 FRET-систем с использованием PCSK9 человека и, в одном случае, PCSK9 яванского макака

ID клона	hP CSK9: EGFA IC50 (нМ)	hP CSK9: ATI000972 IC50 (нМ)	hP CSK9: ATI001125 IC50 (нМ)	Прямое связывание hPCSK 9 EC50 (нМ)	sPCSK9: EGFA IC50 (нМ)
1459D05	4.0	14	nd	3.9	2300
1784F03	2	1.9	nd	1.6	106
1813E02	1.3	2.4	nd	2.3	118
1923B02	2.3	3.2	nd	3.2	53.5
1922G04	1.2	2.0	nd	2.5	26.6
2012A04	2.1	1.2	nd	1.4	70.3
2011H05	2.7	1.4	nd	2.0	17.2
2013E01	1.6	1.8	nd	0.90	12.5
1922G04 (R25D)	2.5	nd	nd	nd	48.1
1922G04 (R25E)	3.5	nd	nd	nd	58.5
2382E03	2.4	nd	0.5	3.7	10.8
2382E05	2.8	nd	0.4	3.8	12.6
2381B08	2.6	nd	1	4.1	27.1
2381B02	2.5	nd	0.5	8.4	9.8
2381B04	2.4	nd	0.5	4.2	17.3
2451H07	0.2	nd	0.2	13.2	27.1
2381D04	2.9	nd	0.5	3.7	12
2381F11	4	nd	0.8	< 1	26.5
2381G09	3.1	nd	1.1	4.5	25.2
2381H09	3.4	nd	0.5	4.1	20.2
2382B09	3.8	nd	0.6	4.0	37.2
2382B10	3	nd	0.5	3.1	18.1
2382C05	4	nd	0.9	3.4	27.2
2382C09	3.5	nd	0.6	2.9	23.9
2382D03	3.3	nd	0.6	3.3	11.8
2382D09	2.6	nd	0.4	3.7	13.9
2382F05	2.4	nd	0.9	3.8	14.6
2382G04	2.9	nd	0.5	3.6	20.1
2382H03	3.4	nd	0.3	3.8	19.8
2382H09	0.9	nd	0.3	3.6	17.9
2382H10	2.6	nd	0.4	4.6	18.2
2382D02	4.5	nd	0.5	5.3	57.8
2451C06	1.2	nd	0.4	5.5	24.7

Анализ ингибирования PCSK9 Аднектинами активности PCSK9 с помощью культур клеток.

Анализ поглощения DiI-ЛПНП.

Для анализа способности Аднектинов ингибировать активность PCSK9 по отношению к РЛПНП были разработаны подходы на основе клеточных культур. Эффективными способами измерения клеточной активности РЛПНП являются способы на основе поглощения меченого ЛПНП, как показано Lagace

T.A. et al. (J. Clin. Invest., 116(11):2995-3005 (2006)). В данной работе адаптирован метод оценки функциональной активности РЛПНП с помощью метода поглощения флуоресцентно-меченого ЛПНП (DiI-ЛПНП), перенесенного из метода, оригинально разработанного Teupser et al. (Biochim. Biophys. Acta, 1303(3): 193-198 (1996)). На начальном этапе, как показано, клетки инкубируют с рекомбинантным PCSK9 человека (10 мг/мл, 135 нМ) в присутствии и в отсутствие Аднектинов. Через два часа остаточная активность РЛПНП оценивается с помощью инкубации с DiI-ЛПНП (5 мкг) в течение 2 ч и последующей оценки накопленного внутри клеток DiI-ЛПНП с применением флуоресцентной микроскопии высокого разрешения и последующим анализом изображений (Cellomics). На фиг. 6 показан эффект нескольких Аднектинов, ингибирующих активность PCSK9 и восстанавливающих функциональную активность РЛПНП в клетках линии HepG2. В данном анализе Аднектины, ингибирующие PCSK9 и восстанавливающие поглощение DiI-ЛПНП, обладали следующими характеристиками EC<sub>50</sub>: 1459D05, EC<sub>50</sub> = 190 нМ; 1784F03, 210 нМ; 2012A04, 130 нМ; 2013E01, 160 нМ.

Анализ снижения количества РЛПНП.

Клетки линии HepG2 растили в полной среде Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM, ATCC®) с 10% FBS (Hyclone) с обработкой 0,25% трипсина (Invitrogen) дважды в неделю. Для индукции повышения уровня экспрессии рецептора ЛПНП клетки инкубировали в течение ночи в среде LPDS [RPMI (ATCC) с 5% безлипопротеиновой сыворотки (Intracel), 100 нМ superstation (BMS) и 50 мкМ мевалоната натрия (Sigma)]. На следующий день клетки короткое время обрабатывали 0,05% трипсина (Invitrogen) и ресуспендировали в количестве  $2 \times 10^6$  клеток на мл, а затем отбирали аликвоты по 100 мкл в лунку в 96-луночные планшеты с V-образным дном. Параллельно предварительно инкубировали Аднектины с PCSK9 в среде LDPS в течение часа при 37°C. Через час клетки центрифугировали и ресуспендировали в 100 мкл смеси Аднектин/PCSK9 и инкубировали в течение ночи при 37°C. На следующий день клетки метили антителом против рецептора ЛПНП (BAF 2148 jn R&D) с последующей обработкой вторичными антителами, конъюгированными с фикоэритрин (PE)-стрептавидином (BD554061 от BD Pharmingen) и анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Canton (BD).

Перед добавлением к клеткам линии HepG2 раствор PCSK9 с концентрацией 10 нМ инкубировали с возрастающей концентрацией кандидатных Аднектинов. После инкубации в течение ночи уровень РЛПНП измеряли с помощью проточного цитофлуориметра. Процент ингибирования PCSK9-опосредованного снижения количества РЛПНП отражался на графике, EC<sub>50</sub> определяли с помощью PRISM. Клон 1459D05 обладал наименьшей способностью ингибирования (ингибирование не достигало максимума), тогда как другие клоны достигают максимума ингибирования PCSK9 в 150-200% (фиг. 7). Сводные данные по фармакологии PCSK9 Аднектина in vitro приведены ниже в табл. 12.

Таблица 12

ID клона	% мономерной формы (ВЭЖ Х-гель- фильтрация)	Tm (°C, DSC)	KD hPCSK9 (37°C, Octet Red) (нМ)	KD hPCSK9 (25 °C, ProteOn) (нМ)	Кросс-реактивность по отношению к белку яванского макака		PCS K9: GFA FRET (EC <sub>50</sub> , нМ)	Снижение количества РЛПНП	
					KD сPCSK9 (25 °C, ProteOn) (нМ)	PCSK9 макака: EGFA FRET (EC <sub>50</sub> , нМ)		% ингибиро вания при 75н М	EC <sub>50</sub> о (нМ)
14 59D05	≥95	63	14.4	1.58	>1000	>1000	5.8	66.8	>200
18 13E02	≥95	70	нд	нд	нд	118.5	2.7	нд	16
17 84F03	≥95	65	нд	нд	нд	106.5	2.01	150.2	26±13
19 23B02	≥95	73	нд	0.17	нд	53.5	2.3	178	23±7
19 22G04	100	83	нд	0.09	15.0	26.6	1.2	105.1	10±2
20 13E01	100	81	нд	0.29	8.1	12.5	1.6	165.5	10±4

## 036055

20 12A04	100	84	нд	0.25	24.3	70.3	2.1	144.5	12± 6
20 11H05	100	76	нд	0.08	23.1	17.2	2.7	197.6	12± 5
23 82D05	97	86	0.314	нд	нд	57.8	2.6	140.5	нд
23 82E03	96	83	2.94	нд	нд	10.8	2.4	89.5	нд
23 82E05	95	84	0.604	нд	нд	12.6	2.8	103.5	нд
23 81B02	96	68	3.29	нд	нд	9.8	2.5	125.4	нд
23 81B04	98	77	0.527	нд	нд	17.3	2.4	121.6	нд
23 81B08	97	78	4.11	нд	нд	27.1	2.6	124.8	нд
23 81D04	98	70	0.237	нд	нд	12	2.9	119.2	нд
23 81F11	95	79	1.59	нд	нд	26.5	4	110.2	нд
23 81G09	96	78	1.12	нд	нд	25.2	3.1	133.0	нд
23 81H09	77	63	3.23	нд	нд	20.2	3.4	94.4	нд
23 82B09	99	88	0.656	нд	нд	37.2	3.8	105.0	нд
23 82B10	99	82	2.35	нд	нд	18.1	3	100.2	нд
23 82C05	97	85	2.49	нд	нд	27.2	4	105.3	нд
23 82C09	96	85	0.757	нд	нд	23.9	3.5	121.7	нд
23 82D03	97	84	1.53	нд	нд	11.8	3.3	80.4	нд
23 82D09	93	84	0.304	нд	нд	13.9	2.6	109.1	нд
23 82F05	99	83	4.54	нд	нд	14.6	2.4	72.2	нд
23 82G04	95	81	1.11	нд	нд	20.1	2.9	146.1	нд
23 82H03	96	85	0.677	нд	нд	19.8	3.4	102.1	нд
23 82H09	95	81	1.86	нд	нд	17.9	0.9	101.2	нд
23 82H10	97	87	1.40	нд	нд	18.2	2.6	118.6	нд
24 51B06	нд	нд	нд	нд	нд	57.8	4.5	92.2	нд
24 51C06	96	87	1.27	нд	нд	24.7	1.2	89.4	нд
24 51H07	97	87	2.08	нд	нд	27.1	0.2	88.8	нд

Пример 3. Фармакодинамические свойства PCSK9 Аднектинов *in vivo*.

Исследования на моделях трансгенных по PCSK9 человека мышей.

Исследование фармакодинамических свойств PCSK9 Аднектинов *in vivo* проводилось на двух различных трансгенных мышинных моделях. Одна из мышинных моделей экспрессировала PCSK9 человека на высоком уровне, что приводило к гиперхолестеринемии (Lagace T.A. et al., J. Clin. Invest., 116(11):2995-3005 (2006)). У мышей другой модели hPCSK9 был встроены в геном (с использованием VAC), уровень его экспрессии регулировался в печени сходно с PCSK9 мыши, hPCSK9 экспрессировался в плазме на близком к нормальному у человека уровне. Для измерения уровня несвязанного PCSK9 человека в плазме (т.е. hPCSK9 не в комплексе с вводимым Аднектином) как показателя количества целевого белка был разработан ИФА-тест. на основе видоспецифических сайт-специфически меченых антител и Аднектинов.

Однократные дозы PCSK9 Аднектинов в пэгилированной форме были введены внутривенно мышам трансгенной линии с повышенным уровнем экспрессии hPCSK9 в дозировках, приведенных на фиг. 8-9. В качестве контроля также вводились PBS или образцы диализата. Введение Аднектина 1459D05-PEG (100 мг/кг внутривенно) приводило к быстрому снижению общего уровня холестерина и ЛПНП-С в плазме (фиг. 8А) более чем на 35% ниже базального уровня в течение 4 ч. Уровень холестерина у мышей, которым вводился Аднектин, сохранялся ниже уровня в контрольной группе на протяжении 48 ч измерений. Это снижение сопровождалось резким снижением уровня циркулирующего несвязанного hPCSK9 у трансгенных мышей, которым вводился Аднектин (фиг. 8В). Вестерн-блоттинг образцов тканей печени, взятых через 6 ч в параллельном исследовании, показал, что уровень РЛПНП был повышен в ~2 раза у мышей, которым вводился Аднектин (результаты не приведены). При дальнейших исследованиях на мышах этой трансгенной линии АТ1001114 вводился в дозировках 10 или 60 мг/кг. Наблюдалось существенное дозозависимое быстрое снижение уровня холестерина в плазме, сопровождаемое дозозависимым снижением уровня несвязанного hPCSK9 (фиг. 9). Эти исследования являются экспериментальной проверкой *in vivo* способности PCSK9 Аднектинов эффективно снижать уровень холестерина у мышей трансгенной по hPCSK9 линии с гиперхолестеринемией.

Исследования *in vivo* проводились на линейных трансгенных мышах нормально экспрессирующих hPCSK9. Введение однократных доз 1459D05-PEG или АТ1001114 (5 мг/кг) привело к быстрому и выраженному снижению уровня несвязанного hPCSK9 в плазме (фиг. 10). Данный фармакодинамический эффект в отношении несвязанного hPCSK9 был более длительным при введении АТ1001114 по сравнению с 1459D05-PEG, поскольку большая степень и длительность эффекта наблюдались для данного Аднектина, обладающего большей аффинностью/потенциалом. Дальнейшее исследование зависимости эффекта от дозы показало, что ингибирующая на 50% дозировка составляла менее 0,1 мг/кг для АТ1001114 в период времени от 3 до 48 ч после введения, как показано на фиг. 11. Полученные на модели трансгенных мышей, экспрессирующих на нормальном уровне hPCSK9, данные показывают, что ингибирующие PCSK9 Аднектины оказывают значительные, аффинно- и дозозависимые эффекты на конечные фармакодинамические показатели, которые коррелируют с регуляцией РЛПНП и снижением уровня ЛПНП-холестерина.

Исследования на яванских макаках.

Исследования фармакодинамики проводились на яванских макаках нормального телосложения. Аднектин АТ1001114 вводился обезьянам внутривенно в дозировке 5 мг/кг, после чего собирали образцы плазмы через определенные промежутки времени для определения уровня ЛПНП-холестерина и оценки фармакокинетики. Введение однократной дозы АТ1001114 быстро приводило к снижению уровня ЛПНП-С в плазме более чем на 50% по сравнению с базальным уровнем (или по сравнению с контрольной группой, получавшей PBS) на протяжении 48 ч (фиг. 12). Длительность эффекта на уровень ЛПНП-С составляла более недели с последующим обязательным восстановлением до базального уровня за 3 недели. Данный эффект наблюдался для пэгилированных двух- и четырехцепочечным ПЭГом массой 40 кДа вариантами анти-PCSK9 Аднектина (АТ1001114 и АТ1001211 соответственно). АТ1001211 представляет собой вариант АТ1001081 с 4-цепочечной ПЭГ (NOF) - группой массой 40 кДа. Уровень общего холестерина изменялся похожим образом, однако никакого эффекта на ЛПВП или другие метаболические параметры не наблюдалось (данные не приведены). Анализ фармакокинетики показал длительность времени полужизни в плазме примерно 80-120 ч, что согласуется с фармакодинамикой снижения ЛПНП у яванских макаков. Полученные данные демонстрируют, что PCSK9 Аднектин является эффективным и быстродействующим агентом, оказывающим быстрый, значительный и специфический эффект снижения ЛПНП-С на модели яванских макаков.

Пример 4. Фармакологическая оценка *in vitro* и *in vivo* слитого белка PCSK9 Аднектин-Fc (PRD460).

Наработка PRD460.

Клетки линии НЕК-293 6Е были трансфицированы вектором, кодирующим PRD460, с помощью полиэтиленimina (PEI). Клетки инкубировали 5 дней при 37°C, 80% влажности и 5% CO<sub>2</sub>. После этого клетки осаждали, супернатант фильтровали через фильтр с размером пор 0,22 мкм и наносили на колонку с белком А. Колонку промывали буфером PBS и элюировали белок буфером, содержащим 20 мМ глицина и 150 мМ NaCl pH 2.8. Препарат элюированного белка концентрировали и пропускали через колон-

ку superdex200 в буфере, содержащем 50 мМ MES, 100 мМ NaCl pH 5.8.

Определение  $K_D$  PRD460 методом SPR.

Характеристики связывания определялись методом поверхностного плазмонного резонанса (SPR). Антитело против белков человека иммобилизовали на поверхности подложки BIACORE® chip, после чего белок PRD460 (последовательность указана в SEQ ID NO: 322) был помещен на подложку для связывания. Различные концентрации hPCSK9 вносили в промывающий раствор, используя 3М раствор  $MgCl_2$  для регенерации подложки между циклами. Для сравнения белок ATI-1081 был связан с подложкой BIACORE® chip с иммобилизованными антителами к 6His-тэгу. Эксперименты для PRD460 проводились дважды в разные дни. Определение кинетики проводилось при 25°C. Оценка кинетических параметров проводилась с использованием программного обеспечения BIACORE® Evaluation и Алгоритма связывания 1:1.

В данных условиях ATI-1081 связывался с PCSK9 человека с константой диссоциации ( $K_D$ ) 6,7 нМ при 25°C. Константа диссоциации ( $K_D$ ) PRD460 с PCSK9 человека в данных условиях составляла 3,29 +/- 0.55 нМ (табл. 13). Определение скорости диссоциации при использовании данного формата анализа, возможно, имеет ограничения вследствие скорости диссоциации связанного лиганда от иммобилизованного связывающего антитела. Таким образом, формат анализа, при котором применяется прямая иммобилизация PCSK9, является более точным для оценки константы диссоциации ( $K_D$ ) для ATI-1081.

Таблица 13. Кинетические параметры связывания для PRD460 и ATI-1081 с иммобилизованным PCSK9 человека

	$k_a$ (1/Mc)	$k_d$ (1/c)	$K_D$ (нМ)
PRD460	3.75 +/- 0.7 E+04	1.21 +/- 0.05 E-04	3.29 +/- 0.55
ATI-1081	3.65E+04	2.45E-04	6.7

Анализы связывания PCSK9 на основе FRET.

Для определения в конкурентных условиях связывающего потенциала PRD460 и других Аднектинов с hPCSK9 были использованы две системы анализа на основе флуоресцентного резонансного переноса энергии (FRET). Система PCSK9:EGFA измеряет связывание PCSK9 с РЛПНП, используя пептид домена А гомологичного предшественнику растворимого эпидермального фактора роста (EGFA) и рекомбинантный PCSK9 человека. Система PCSK9:ATI972 измеряет конкурентное замещение Аднектинами биотинилированного Аднектина ATI-972 на молекуле PCSK9.

В системе PCSK9:EGFA (при концентрации PCSK9 5 нМ) PRD460 полностью замещал EGFA, связанный с PCSK9, с  $EC_{50} = 0.7$  нМ (фиг. 1, слева). В данном формате анализа PRD460 обладал большей активностью, чем ATI-1174 ( $EC_{50} = 1.9$  нМ) или ATI-1081 ( $EC_{50} = 3.7$  нМ) (фиг. 14). Большая активность PRD460 в данном формате анализа может объясняться бивалентностью связывания Аднектина PRD460 с PCSK9 (теоретически) по сравнению с одновалентным (1:1) связыванием у ATI-1081 и ATI-1174.

В системе PCSK9:ATI972 (при концентрации PCSK9 5 нМ) PRD460 ингибировал связывание с  $EC = 0,3$  нМ, по сравнению с 0,8 нМ для ATI-1114 и 2,8 нМ для ATI-1081 (фиг. 15). Эти данные демонстрируют, что PRD460 активно замещает Аднектин ATI-972 на его сайтах связывания с PCSK9. Большая активность PRD460 по сравнению с ATI-1081 и ATI-1174 согласуется с бивалентным типом связывания PRD460.

Ингибирование снижения уровня РЛПНП, индуцированного PCSK9, на клетках линии HepG2.

PCSK9 человека индуцирует снижение представленности РЛПНП на поверхности клеток линии HepG2. Предварительная инкубация PCSK9 с PCSK9 Аднектинами ингибирует связывание PCSK9 с РЛПНП и предотвращает снижение представленности РЛПНП на поверхности клеток. Данная система анализа была применена для измерения активности ингибирования ATI-1081, ATI-1174 и PRD460 индуцированного PCSK9 снижения уровня представленности РЛПНП на клеточной поверхности.

Серийные разведения PCSK9 Аднектинов инкубировались с PCSK9 человека в концентрации 10 нМ в течение 1 ч при 37°C. Затем в смеси вносились клетки линии HepG2 и смеси инкубировались далее в течение 24 ч. После этого уровень РЛПНП на клеточной поверхности клеток линии HepG2 измерялся с помощью проточной цитофлуориметрии. На графике указывался рассчитанный уровень ингибирования снижения представленности РЛПНП, индуцируемого PCSK9 (фиг. 15). По результатам данного анализа ATI-1081, ATI-1174 и PRD460 ингибировали активность PCSK9 со сравнимыми значениями  $EC_{50}$  (9, 8 и 6 нМ соответственно). Однако для PRD460 неоднократно наблюдался сдвиг данной кривой влево. Указанные значения  $EC_{50}$  представляют собой предел измерения для данного анализа.

Анализ PCSK9 клетками линии HepG2.

Связывание PCSK9 с РЛПНП на поверхности гепатоцитов приводит к интернализации комплекса РЛПНП- PCSK9 в ходе эндоцитоза РЛПНП, что приводит к ускоренной деградации РЛПНП. Для измерения опосредованного РЛПНП проникновения внутрь клеток флуоресцентного PCSK9 был разработан специфический анализ. Молекулы PCSK9 человека были ковалентно мечены флуорофором ALEXA FLUOR®-647(AF647). Полученный PCSK9-AF647 инкубировался с клетками линии HepG2 в присутст-

вии и в отсутствие PCSK9-Аднектинов, после чего измерялась внутриклеточная флуоресценция с помощью флуоресцентной микроскопии высокого разрешения и анализа изображений (Cellomics). Зависимость поглощения PCSK9-AF647 клетками от эндоцитоза РЛПНП была показана в предварительных экспериментах. Клетки линии HepG2 инкубировались с PCSK9-AF647 в концентрации 10 нМ и различными количествами Аднектинов в течение 4 ч при 37°C. По результатам данного анализа активное ингибирование внутриклеточной флуоресценции PCSK9-AF647 наблюдалось для PRD460 ( $EC_{50} = 6$  нМ) и для АТИ-1174 ( $EC_{50} = 10$  нМ) (фиг. 16). Эти данные в культуре линии человеческих гепатоцитов демонстрируют эффективное блокирование Аднектинами PRD460 и АТИ-1174 связывания PCSK9 с РЛПНП на клеточной поверхности, что, таким образом, снижает уровень интернализации PCSK9-AF647 при эндоцитозе РЛПНП.

Исследования *in vivo* на трансгенных линиях мышей.

Исследования *in vivo* проводились на трансгенной линии мышей, экспрессирующей hPCSK9 на нормальном уровне. Предполагается, что связывание Аднектинов с PCSK9 в плазме крови приводит к снижению измеряемого количества несвязанного (свободного) циркулирующего PCSK9. Данное снижение несвязанного PCSK9 является начальным фармакодинамическим эффектом, который приводит к ингибированию взаимодействия PCSK9 с РЛПНП и снижению уровня холестерина ЛПНП. Введение однократных доз PRD460 (внутрибрюшинно, в дозировках от 0,6 до 1,8 мг/кг) трансгенным мышам приводило к быстрому выраженному снижению уровня несвязанного hPCSK9 в плазме крови (фиг. 17). Наблюдалась дозозависимость данного эффекта с  $ED_{50} < 0,6$  мг/кг во временной точке 3 ч. Данные результаты, полученные на трансгенной линии мышей с нормальным уровнем экспрессии hPCSK9, демонстрируют активное и выраженное связывание PRD460 с циркулирующим hPCSK9 *in vivo*.

Исследования фармакодинамики *in vivo* на яванских макаках.

Фармакодинамические параметры PCSK9 Аднектина PRD460 были определены в исследованиях на яванских макаках нормального телосложения. Для анализа уровня ЛПНП-С и свободного PCSK9 PRD460 вводился обезьянам внутривенно в дозировке 15 мг/кг, после чего собирались образцы плазмы через определенные временные интервалы в течение 4 недель. Однократная доза PRD460 приводила к быстрому снижению уровня ЛПНП-С у обезьян, достигавшему максимального значения в 42% от базового уровня ЛПНП-С (58% снижение,  $n=3$  обезьяны) на третий день после введения (фиг. 18). Уровень ЛПНП-С был снижен на 50% и более в течение недели после введения, оставаясь значительно сниженным по сравнению с базовым на протяжении 3 недель и достигая базового уровня через 4 недели после введения. Уровень общего холестерина изменялся схожим образом, однако уровень ЛПВП не менялся (данные не приведены). Введение PRD460 приводит к немедленному снижению почти до 0 (ниже предела количественного измерения) уровня несвязанного PCSK9 в свободной форме в плазме (фиг. 18). Уровень свободного PCSK9 сохранялся ниже предела детекции в течение нескольких дней, после чего постепенно увеличивался до базового уровня к концу 4-й недели, что согласуется с данным относительно изменения уровня ЛПНП-С при введении PRD460. Полученные данные демонстрируют, что снижение уровня ЛПНП в плазме отражает падение уровня свободного PCSK9, что согласуется с ингибированием PCSK9, регулирующим функцию РЛПНП, после введения PRD460 *in vivo*. Анализ фармакокинетики в данных исследованиях на обезьянах показал, что время полужизни в плазме Аднектина PRD460 составляло приблизительно 70 ч. Эти данные демонстрируют высокую эффективность и быстрое действие слитого белка PCSK9 Аднектин-Fc в значительном, специфичном и длительном снижении уровня ЛПНП-С в исследовании на яванских макаках.

Фармакологическая оценка немодифицированного PCSK9 Аднектина АТИ-1081 *in vivo*.

В дополнение к модифицированным Аднектинам, содержащим РК-группу (например, пэгилированным или слитым с Fc-фрагментом Аднектинам), может вводиться также немодифицированный ("свободный") PCSK9 Аднектин. Стратегии для лечения немодифицированным PCSK9 Аднектином включают более частый прием с учетом более короткого времени полужизни в плазме или использование лекарственных форм с подкожным пролонгированным высвобождением для увеличения продолжительности абсорбционной фазы и увеличения длительности фармакодинамики. Многие из таких лекарственных форм могут быть разработаны, включая, как простой пример, растворы в системе пропилен гликоль/PBS для снижения скорости абсорбции и увеличения времени экспозиции Аднектина в кровотоке.

Немодифицированный Аднектин АТИ-1081 вводился яванским макакам внутривенно в дозировке 10 мг/кг в PBS. Для сравнения вводился АТИ-1114 (пэгилированный вариант того же Аднектина) в дозировке 1 мг/кг в PBS. Введение АТИ-1081 вызывало быстрое временное снижение уровня несвязанного PCSK9 в кровотоке. В течение 30 мин степень снижения достигала 100% (ниже предела количественного обнаружения) с последующим возвращением к базовому уровню в течение нескольких часов (фиг. 19). Одновременно наблюдалась тенденция к снижению уровня ЛПНП-С в течение первых 24 ч после введения АТИ-1081 обезьянам (фиг. 20).

Немодифицированный Аднектин АТИ-1081 также вводился мышам трансгенной линии нормальным уровнем экспрессии hPCSK9 в виде простой подкожной лекарственной формы с пролонгированным высвобождением: смесь 50:50 полипропиленгликоля и PBS, для сравнения с PBS-носителем. Ожидалось, что данная лекарственная форма умеренно снизит скорость абсорбции Аднектина и увеличит время экс-

позиции ATI-1081 в кровотоке, таким образом улучшая фармакодинамику. Введение (внутрибрюшинно) ATI-1081 в дозировке 1 мг/кг в PBS приводило к снижению несвязанного PCSK9 в плазме на 50% через 3 ч по сравнению с 85%-ным снижением при введении ATI-1114 в дозировке 0,3 мг/кг (фиг. 21). В ходе второго эксперимента ATI-1081 вводился трансгенным мышам путем подкожных инъекций с полипропиленгликолевым носителем (PG), что приводило к примерно эквивалентному по сравнению с ATI-1174 снижению несвязанного ЛПНП с увеличенной длительностью данного эффекта на протяжении первых 6 ч исследования (фиг. 22). Эти данные демонстрируют связывание немодифицированного PCSK9 Аднектина ATI-1081 с PCSK9 человека *in vivo* и улучшение изначальной фармакодинамики при введении немодифицированного PCSK9 Аднектина ATI-1081 подкожно с простым носителем, обеспечивающим пролонгированное время высвобождения. Зависимость эффекта от времени согласовывалась с увеличением времени высвобождения и длительностью эффекта немодифицированного PCSK9 Аднектина.

Пример 5. Аднектины, связывающие сывороточный альбумин (SABA).

Пример 5А. Поиск и селекция кандидатных Аднектинов, связывающих сывороточный альбумин. Обзор.

Метод селекции, называемый PROfusion (см., например, Roberts et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94(23): 12297-12302 (1997) и WO 2008/066752), был применен для библиотек ДНК, содержащих сконструированные вариабельные области в петлях BC, DE и FG домена <sup>10</sup>Fn3. На основе этих конструкций были созданы библиотеки, содержащие более 10<sup>13</sup> случайных последовательностей, подвергнутые затем отбору против биотинилированной формы HSA, для отбора кандидатных Аднектинов, связывающих сывороточный альбумин (SABA) с требуемыми свойствами связывания.

Процесс получения белков с помощью технологии высокопроизводительной наработки белка (High Throughput Protein Production (HTTP)).

Различные Аднектины, связывающие HSA, были получены с помощью технологии высокопроизводительной наработки белков HTTP. Отобранные последовательности, кодирующие связывающие HSA белки, были клонированы в вектор pET9d, содержащий 6His-тэг, после чего данным вектором были трансформированы клетки *E.coli* штамма BL21(DE3) pLysS. Полученные трансформанты были инокулированы в 5 мл среды LB, содержащей 50 мкг/мл канамицина, в 24-луночных планшетах. Культуры инкубировались при 37°C в течение ночи. После этого готовили следующие культуры для индукции экспрессии путем добавления 200 мкл ночных культур в свежие 5 мл среды LB (50 мкг/мл канамицина) в соответствующие лунки. Культуры инкубировались при 37°C до достижения оптической плотности A<sub>600</sub> 0,6-0,9. Индукция экспрессии осуществлялась добавлением к культуре изопропил-β-тиогаляктозида (IPTG) до концентрации 1 mM, после чего культуры инкубировались в течение 4 ч при 30°C. После этого клетки осаждали центрифугированием в течение 10 мин при ускорении 3200 g и температуре 4°C. Полученные осадки клеток замораживали при -80°C.

Осадки клеток (в 24-луночном формате) лизировали ресуспендированием в 450 мкл Лизирующего буфера (50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5M NaCl, 1× Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA в свободной форме (Roche), 1 mM PMSF, 10 mM CHAPS, 40 mM Имидазола, 1 мг/мл лизоцима, 30 мкг/мл ДНКазы, 2 мкг/мл апротонина, pH 8.0) и последующим перемешиванием при комнатной температуре в течение 1 ч. Лизаты осветляли и анализ переводился в 96-луночный формат путем переноса лизатов на 96-луночный фильтративный планшет Whatman GF/D UNIFILTER®, совмещенный с планшетом для сбора фильтрата объемом 650 мкл, и последующим центрифугированием в течение 5 мин при ускорении 200 g. Осветленные лизаты переносили на 96-луночный планшет с Ni-хелатирующим сорбентом, предварительно уравновешенный буфером для уравновешивания (50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5M NaCl, 10 mM CHAPS, 40 mM Имидазола, pH 8.0), и инкубировали в течение 5 мин. Несвязавшееся вещество удаляли. Смола отмывалась дважды по 0,3 мл/лунку отмывочным буфером № 1 (50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5M NaCl, 5 mM CHAPS, 40 mM Имидазола, pH 8.0). Затем трижды промывали смолу по 0,3 мл/лунку PBS. Перед элюцией в каждую лунку вносили по 50 мкл элюирующего буфера (PBS + 20 mM ЭДТА). После инкубации в течение 5 мин жидкость удаляли с помощью вакуума. Белок элюировали внесением 100 мкл/лунку элюирующего буфера. После инкубации в течение 30 мин при комнатной температуре планшет(ты) центрифугировали в течение 5 мин при ускорении 200g. Элюированный белок собирали в 96-луночный планшет для сбора, содержащий по 5 мкл 0,5M раствора MgCl<sub>2</sub> на дне лунок. Концентрацию элюированного белка измеряли с помощью метода BCA с использованием в качестве белкового стандарта SGE (контрольный Аднектин). SGE Аднектин представляет собой <sup>10</sup>Fn3 домен дикого типа (SEQ ID NO: 1), в котором интегрин-связывающий домен (аминокислотные остатки RGD в положении 78-80) заменен на остатки SGE.

HAS, RhSA и MuSA белки в прямом ИФА.

Для анализа прямого связывания с HSA на планшеты MaxiSorp plates (Nunc International, Rochester, NY) был сорбирован HSA (Sigma, St. Louis, MO) из концентрации 10 мкг/мл в течение ночи при 4°C. После сорбции сайты неспецифического связывания блокировались с помощью инкубации планшетов с казеиновым блокирующим буфером (Thermo Scientific, Rockford, IL) в течение 1-3 ч при комнатной температуре. Для скрининга по одной точке очищенный с помощью HTTP Аднектин разбавляли в соотношении 1:20 в казеиновом блокирующем буфере и вносили в лунки для связывания с HSA. Планшеты



инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре. При анализе зависимости связывания от концентрации использовали концентрации в диапазоне от 0,1 нМ до 1 мкМ. После инкубации планшеты отмывали от несвязавшегося Аднектина буфером PBST, после чего для связывания с Аднектином с His-тэгом в лунки вносили конъюгат анти-His моноклональных антител с HRP (R&D Systems, MN) в разведении 1:2500 в казеиновом блокирующем буфере и инкубировали планшеты в течение 1 ч при комнатной температуре. Избыток конъюгата удаляли промыванием PBST и детектировали связывание Аднектинов с помощью реактивов, содержащих ТМБ (BD Biosciences), в соответствии с рекомендациями производителя.

Измерение степени агрегации с помощью гель-фильтрационной хроматографии.

Гель-фильтрационную хроматографию (Size exclusion chromatography (SEC)) проводили для SABA, полученных с помощью НТТР. Для этого использовались колонки SUPERDEX® 200 5/150 или SUPERDEX® 75 5/150 (GE Healthcare) на системах для ВЭЖХ Agilent 1100 или 1200 с детекцией при  $A_{214}$  нм и  $A_{280}$  нм, а также с системой для детекции флуоресценции (возбуждение при 280 нм, эмиссия при 350 нм). Для хроматографии использовали следующий буфер: 100 мМ сульфата натрия, 100 мМ фосфата натрия, 150 мМ хлорида натрия, pH 6.8; при соответствующей используемым колонкам скорости потока. Для калибровки по молекулярному весу использовались стандарты молекулярных весов для гель-фильтрации (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA).

По результатам гель-фильтрационной хроматографии выделенные и очищенные с помощью НТТР SABA преимущественно являются мономерными и элюируются в области 10 кДа по сравнению с глобулярными стандартами молекулярных весов для гель-фильтрации (BioRad).

Идентификация кандидатных Аднектинов, связывающих сывороточный альбумин (SABA).

В результате скрининга по связыванию с HSA/RhSA/MuSA и биофизическим критериям были идентифицированы и выбраны для дальнейшей оценки времени полужизни в мышинной модели четыре уникальных Аднектина, связывающих сывороточный альбумин (SABA). Для проведения *in vitro* и *in vivo* характеристики данные SABA были наработаны в среднемасштабных количествах. В табл. 6 представлены последовательности 26 уникальных коровых последовательностей SABA (обозначены цифрами от 1 до 26), идентифицированных с помощью технологии PROfusion. В последовательности SABA4 перед наработкой в среднемасштабных количествах была зафиксирована мутация в структурной части. Лучшим вариантом структурной части последовательности SABA4 является SABA5. Оба варианта, SABA4 и SABA5, имеют идентичные последовательности петель BC, DE и FG.

Пример 5B. Продукция и лекарственные формы кандидатных SABA.

Среднемасштабная наработка белков SABA.

Отобранные последовательности SABA, описанные в примере 5A, с 6His-тэгом на конце, были клонированы в вектор pET 9d и экспрессированы в клетках E.coli штамма BL21(DE3) pLysS (в табл. 6 приведены последовательности всех SABA с His-тэгом, обозначенные SABA1.1, SABA2.1, SABA3.1 и SABA5.1). 20 мл культуры клеток (полученных с одной колонии рассеянной на чашке) инокулировали в 1 л среды LB с 50 мкг/мл канамицина. Культуру инкубировали до оптической плотности  $A_{600}$  0,6-1,0 при 37°C. После индукции экспрессии внесением изопропил- $\beta$ -тиогаалактозида (IPTG) до концентрации 1 мМ, культуру инкубировали 4 ч при 30°C, после чего собирали клетки центрифугированием в течение 30 мин при ускорении  $\geq 10000$  g и температуре 4°C. Полученные осадки клеток замораживали при -80°C. Осадки клеток ресуспендировали в 25 мл буфера для лизиса (20 мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.5M NaCl, 1× Complete Protease Inhibitor Cocktail-EDTA в свободной форме (Roche), pH 7.4) и лизировали клетки на льду с использованием гомогенизатора ULTRA-TURRAX® (IKA works). Лизис клеток достигался за счет высокого давления при гомогенизации ( $\geq 18,000$  psi) при использовании микрофлюидизера Model M-110S MICROFLUIDIZER® (Microfluidics). Растворимую фракцию отделяли центрифугированием в течение 30 мин при ускорении 23300 g и температуре 4°C. Полученный супернатант осветляли фильтрованием через фильтр с размером пор 0,45 мкм. Осветленный лизат наносили на колонку HISTRAP® (GE), предварительно уравновешенную буфером, содержащим 20 мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.5M NaCl, pH 7.4. После нанесения колонку промывали 25 объемами колонки буфера 20 мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.5M NaCl, pH 7.4, затем 20 объемами буфера 20 мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.5M NaCl, 25мМ имидазола pH 7.4, затем 35 объемами 20 мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.5M NaCl, 40 мМ имидазола pH 7.4. белок элюировали в 15 объемах колонки буфером, содержащим 20 мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.5M NaCl, 500 мМ имидазола pH 7.4. Фракции объединяли на основе значений поглощения при  $A_{280}$ , после чего диализовали полученные препараты белков против буфера: 1× PBS, 50 мМ Tris, 150 мМ NaCl pH 8.5 или 50 мМ NaOAc; 150 мМ NaCl; pH 4.5. Выпавший осадок удаляли фильтрованием через фильтр с размером пор 0,22 мкм.

В результате среднемасштабной экспрессии и очистки получали высокоочищенные и активные Аднектины, экспрессированные в растворимой форме и очищенные от растворимых фракций бактериального лизата. Анализ с помощью гель-фильтрации на колонках SUPERDEX® 200 или SUPERDEX® 75 10/30GL с подвижной фазой 100 мМ  $\text{NaPO}_4$ , 100 мМ  $\text{NaSO}_4$ , 150 мМ NaCl, pH 6.8 (GE Healthcare) демонстрировал преимущественное присутствие мономерной формы Аднектинов.

Лекарственная форма SABA 1.2.

Определенный SABA, SABA1.2 (SEQ ID NO: 411), был выбран для предварительного подбора ле-

карственной формы. Последовательность SABA1.2 содержит удлинение (ED)<sub>5</sub> в "коровой последовательности 1" последовательности <sup>10</sup>Fn3 (см. SEQ ID NO: 421 в табл. 6). Для SABA1.2 была определена стабильная лекарственная форма в виде раствора, содержащего 10 мМ сукциновой кислоты, 8% сорбитола, 5% глицина и 5 мг/мл белка SABA1.2, pH 6.0. Температура плавления данного белка в такой лекарственной форме составляла 75°C по результатам определения с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) при концентрации белка 1,25 мг/мл. Данная лекарственная формула обеспечила удовлетворительные физическую и химическую стабильность при 4 и 25°C с исходным уровнем агрегации 1,2%. Спустя месяц хранения уровень агрегации был очень низок (1.6% при 4°C и 3.8% при 25°C). Белок в указанной лекарственной форме также оставался стабильным после 4 циклов замораживания-оттаивания при отогревании с -80 и -20°C до комнатной температуры. Также в указанной лекарственной форме SABA1.2 был растворим до концентрации по меньшей мере 20 мг/мл при 4°C и комнатной температуре, без образования осадка или повышения количества агрегатов.

Пример 5С. Определение биофизических характеристик кандидатных SABA.

Гель-фильтрационная хроматография.

Образцы кандидатных SABA, наработанных в среднемасштабном количестве, были подвергнуты гель-фильтрационной хроматографии (SEC). Гель-фильтрационная хроматография проводилась на колонках SUPERDEX® 200 10/30 или SUPERDEX® 75 10/30 (GE Healthcare) с использованием систем для ВЭЖХ Agilent 1100 или 1200 и системы детекции поглощения при длинах волн 214 и 280 нм, а также флуоресценции (возбуждение = 280 нм, эмиссия = 350 нм). Для хроматографии использовался буферный раствор следующего состава: 100 мМ сульфата натрия, 100 мМ фосфата натрия, 150 мМ хлорида натрия, pH 6.8. Хроматографию вели на скоростях потока в зависимости от типа колонки. Для калибровки молекулярного веса применяли набор стандартов молекулярных весов (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA).

Результаты гель-фильтрационной хроматографии продемонстрировали, что в исследованных образцах Аднектин преимущественно находился в форме мономера и элюировался в примерном диапазоне 10 кДа по сравнению с набором глобулярных стандартов для гель-фильтрации (BioRad).

Термостабильность.

Для определения T<sub>m</sub> наработанных в среднемасштабном количестве белков SABA был использован метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК, DSC). Растворы с концентрацией 1 мг/мл были проанализированы с помощью калориметра N-DSC II (Calorimetry Sciences Corp) в диапазоне температур от 5 до 95°C, со скоростью изменения 1°/мин и при давлении в 3 атм. Полученные данные сравнивались с контрольным измерением для соответствующего буфера и алгоритма наилучшего соответствия программного обеспечения Orgin (OrginLab Corp). Результаты гель-фильтрационной хроматографии ДСК сведены в табл. 14.

Таблица 14. Сводные данные гель-фильтрационной хроматографии и ДСК для кандидатных вариантов SABA

Клон	Гель-фильтрационная хроматография		ДСК (T <sub>m</sub> )
	Мономер (%)	Димер (%)	
SA BA1.1	92.3	7.7	63.9 °C
SA BA5.1	88	12	70.1 °C
SA BA2.1	91	9	58.5 °C/78.2 °C
SA BA3.1	99	<пд*	65.2 °C

\*пд - предел детекции.

Пример 5D. Характеристика связывания с сывороточным альбумином кандидатного варианта SA-BA1.

Кинетика связывания выбранных клонов SABA, полученных с помощью технологии НТТР или наработанных в среднемасштабных количествах (описано в примерах 5А и 5В), была определена с помощью связывания соответствующего сывороточного альбумина (HSA/RhSA/MuSA) на поверхности чипа Biasensor CM5 и пропускания потока растворов с серийными разведениями SABA через ячейку сравнения и ячейку со связанными альбуминами. В дополнение, связывание с альбуминами проводилось при различных pH, в диапазоне от 5,5 до 7,4. Аднектины, связывающие HSA, SABA2.1, SABA3.1, SABA4.1 и SABA1.1, обладали кросс-реактивностью по отношению к RhSA, однако не связывались с MuSA. Связывание SABA2 и SABA4 с HSA является pH-чувствительным, тогда как связывание с HSA варианта

SABA3 устойчиво к снижению pH вплоть до 6,0. Вариант SABA1.1 удовлетворяет биохимическим критериям по pH-стабильности и аффинности/кинетике при снижении pH до 5,5.

Картирование доменов проводилось с помощью BIACORE®. Отобранные клоны SABA, очищенные с помощью технологии НТТР или наработанные в среднемасштабных количествах, были проанализированы с помощью связывания HSA или конструкций, содержащих домены I и II HSA или домен III HSA на поверхности чипа Biasensor CM5 и последующего пропускания растворов с серийными разведениями вариантов SABA через ячейку сравнения и ячейку со связанными альбуминами. Клоны SABA2 и SABA1 связывались с HSA и конструкциями домен I-домен II HSA, но не с доменом III отдельно. Клоны SABA3 и SABA4 связывались с HSA, но ни с одним из вышеуказанных конструкторов. Полученные результаты сведены в табл. 15.

Таблица 15. Аффинность связывания и кинетика кандидатных вариантов SABA (SABA1.1, 2.1, 3.1 и 4.1)

Аднектин	Целевой белок	$K_D$ (нМ)	$K_o$ ff ( $c^{-1}$ )	Устойчивость в диапазоне pH 7.4→5.5?	Эпитоп на HSA
SABA 2	HSA	33.8 +/- 20.5 (n=6)	1. 71E-04	---	Домен I-II
	RhSA	63.6	4. 42E-04		
SABA 3	HSA	863	6. 82E-02	+++ (при снижении до 6.0)	Ни один из конструкторов: домен I-II или домен III (междоменный участок?)
	RhSA	431	3. 37E-02		
SABA 4	HSA	412 +/- 8 (n=4)	7. 82E-04	--	Ни один из конструкторов: домен I-II или домен III (междоменный участок?)
	RhSA	>1000	3. 83E-03		
SABA 1	HSA	47.2 +/- 18.2 (n=9)	4. 57E-04	+++	Домен I-II
	RhSA	778 +/- 313 (n=4)	5. 45E-03		

Пример 5Е. Исследование *in vivo* параметра  $t_{1/2}$  кандидатных вариантов SABA.

Определение параметров HSA-связывающих Аднектинов проводили на мышах, поскольку данные Аднектины не обладают перекрестным взаимодействием с MuSA. Для этого определяли время полужизни HSA в плазме мышей. 6-недельным самкам мышей линии Ncr nude вводили в хвостовую вену HSA в дозировках 20 мг/кг (фиг. 23А) и 50 мг/кг (фиг. 23В), после чего оценивали с помощью ИФА концентрацию HSA в образцах крови, взятых через определенные интервалы времени после инъекции. Параметр  $t_{1/2}$  введенного HSA определяли для дозировки 20 мг/кг через 24 ч, для дозировки 50 мг/кг через 20 ч после введения.

Определение времени полужизни SABA1-4 у мышей.

В объеме одного литра культуры *E.coli* нарабатывались, выделялись, очищались от примесей и от эндотоксина белки клонов SABA1.1, SABA2.1, SABA3.1 и SABA4.1. Каждый из вариантов SABA вводили в хвостовую вену мышей, после чего оценивали с помощью ИФА концентрацию введенных белков в образцах крови, взятых через определенные интервалы времени после инъекции.

Исследования фармакокинетических профилей каждого из вариантов SABA в присутствии и в отсутствие HSA проводили на 6-недельных самках мышей линии Ncr nude. При введении мышам дополнительно с SABA HSA предварительно готовили смесь HSA с SABA (HSA в 3-4 молярном избытке). Исследуемые клоны SABA были специфичны к HSA и RhSA, но не связывались с MuSA. Время полужизни в плазме мышей белка SABA1.1 (клон 1318H04) составляло 0,56 ч, тогда как совместная инъекция SABA1.1 с HSA приводила к ~10-кратному повышению времени полужизни, которое составляло 5,6 ч (фиг. 24А). Время полужизни в плазме мышей белка SABA2.1 составляло 0,24 ч, тогда как совместная инъекция SABA2.1 с HSA приводила к ~12-кратному повышению времени полужизни, которое составляло 2,8 ч (фиг. 24В). Время полужизни в плазме мышей белка SABA3.1 (клон 1245H07) составляло 0,28 ч, тогда как совместная инъекция SABA3.1 с HSA приводила к ~2-кратному повышению времени полу-

жизни, которое составляло 0,53 ч (фиг. 24С). Время полужизни в плазме мышей белка SABA4.1 составляло 0,66 ч, тогда как совместная инъекция SABA4.1 с HSA приводила к ~7-кратному повышению времени полужизни, которое составляло 4,6 ч (фиг. 24D). Сводные данные по приведенным примерам приведены на фиг. 25. В табл. 16 сведены сходные данные для вариантов SABA1.1, SABA2.1, SABA3.1 и SABA5.1; по возможности дано сравнение со временем полужизни у яванского макака.

Таблица 16

Н	КЛО	ПК (T1/2)		Примечания
		Мыши	Яванский макак	
A1.1	SAB .6 ч	5 137 ч	96- 137 ч	T1/2 = 96-137 ч
A5.1	SAB .6 ч	4 ч	12 ч	Низкая аффинность связывания с RhSA. При pH<6.0 наблюдается 2-кратное повышение KD
A2.1	SAB .8 ч	2	НД	Отсутствие связывания при pH <6.5
A3.1	SAB 2 мин	3	НД	Малое значение T1/2 наблюдается у мышей

Определение времени полужизни вариантов SABA1.1 и SABA5.1 у яванских макаков.

Для предварительной оценки фармакокинетики было проведено исследование на 2 яванских макаках для вариантов SABA1.1 (фиг. 26А) и SABA5.1 (фиг. 26В). Белки вводились однократно внутривенно в дозе 1 мг на кг (мг на кг, трк). Фармакокинетика оценивалась с использованием количественного анализа на основе ИФА, разработанного для детекции Аднектина в образцах плазмы крови. Вариант SABA1.1 имеет время полужизни в диапазоне 96-137 ч (фиг. 26А и табл. 17А). Время полужизни варианта SABA5.1 составляет около 12 ч. Концентрация SABA5.1 в плазме была достоверно измеряема с помощью ИФА только на протяжении 120 ч после инъекции (фиг. 26В). В табл. 17А сведены данные, полученные для варианта SABA1.1, в табл. 17В - для SABA5.1.

Таблица 17А. SABA1.1

О безьяна	t1/ 2 (ч)	Cmax (мкг/мл)	AUC all (ч*м кг/мл)	Cl_o bs (мл/ ч/кг)	V z_obs ( мл/кг)
#1	95 8	9.03	673. 7	1.45	2 00.8
#2	13 6.6	7.24	625. 1	1.60	3 15.2

Таблица 17В. SABA5.1

	HL_Lambda_z (ч)	Cmax (мкг/мл)	AUCall (ч*мкг/мл)	Cl_obs (мл/ч/кг)	Vz_obs (мл/кг)
N	2	2	2	2	2
Среднее	12.186	17.358	246.882	4.089	72.507
SD	1.451	3.08	36.245	0.596	19.045
Min	11.16	15.18	221.25	3.67	59.04
Max	13.21	19.54	272.51	4.51	85.97
CV%	11.9	17.7	14.7	14.6	26.3

Пример 5F. Характеристики связывания SABA1 с сывороточным альбумином.

SABA1.1 и 1.2 связываются с HAS и RhSA.

SABA1.2 представляет собой "коровую последовательность 1" домена <sup>10</sup>Fn3, содержащую удлинение (ED)<sub>5</sub> (SEQ ID NO: 421 в табл. 6). SABA1.2 связывался с сывороточным альбумином человека (HSA) при нейтральных значениях pH и температуре 25°C со средней константой скорости ассоциации (ka)

$8,21E+03 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  и средней константой скорости диссоциации ( $k_d$ )  $4,34E-04\text{s}^{-1}$ , с рассчитанной средней  $K_d$  55,3 нМ (табл. 18). Для сывороточного альбумина макаки-резус измеренная константа скорости ассоциации составляла  $6,6E+03 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , константа скорости диссоциации составляла  $3,78E-03 \text{ s}^{-1}$ , что давало расчетное среднее значение  $K_d$  580 нМ. Измеряемого взаимодействия между SABA1.2 и сывороточными альбуминами мыши или крысы не наблюдалось вплоть до концентрации 1 мкМ (табл. 18 и фиг. 27). При  $37^\circ\text{C}$  значения  $k_a$  и  $k_d$  повышались от 2 до 5 раз, что приводило примерно к 2-кратному росту аффинности к HSA и  $1/2$ -кратному росту аффинности к RhSA (табл. 18).

Таблица 18. Кинетические параметры связывания альбуминов для SABA1.2 в HBS-P буфере

Альбумин	Температура (°C)	$k_a$ (1/Мс)	$k_d$ (1/с)	$KD$ (нМ)
Человек	25	$8,21 \pm 1,19 \text{ E}+03$	$4,43 \pm 0,65 \text{ E}-04$	$55,3 \pm 13,7$
Макака-резус		$6,60 \pm 1,18 \text{ E}+03$	$3,78 \pm 0,45 \text{ E}-03$	$580 \pm 62,6$
Мышь		наблюдаемое связывание отсутствует		
Человек	37	$3/38\text{E}+04$	$8/15\text{E}-04$	$24/1$
Макака-резус		$1/89\text{E}+04$	$1/85\text{E}-02$	$977/4$
Мышь		наблюдаемое связывание отсутствует		

Дополнительно, для определения стехиометрических параметров связывания SABA1 и HSA было проведено калориметрическое титрование. Для данного исследования использовался вариант SABA1.1, представляющий собой "коровую последовательность 1" домена  $^{10}\text{Fn3}$ , содержащую удлинение в виде 6His-тэга (SEQ ID NO: 420 в табл. 6). HSA (10 мкл на впрыск раствора с концентрацией 115 мкМ) вводили в калориметрическую ячейку, содержащую SABA1.1 в концентрации 8,1 мкМ. Данный эксперимент проводили при  $37^\circ\text{C}$  в PBS при pH 7.4. На фиг. 28 приведены данные, демонстрирующие 1:1 стехиометрию связывания SABA1.1 с HSA.

SABA1.2 активно связывается с HSA при низких значениях pH.

Длительное время полужизни альбуминов (например,  $t_{1/2}$  HSA составляет 19 дней) в большой степени связано с тем, что альбумины связываются с неонатальным Fc-рецептором (FcRn) при низких значениях pH внутри эндосомы, что позволяет избежать деградации и приводит к возврату молекулы альбумина в кровоток. Данные в табл. 19 показывают, что вариант SABA1.2 активно связывался с HSA при значении pH 5.5, совпадающим с pH в эндосоме, что позволяет предполагать, что  $t_{1/2}$  SABA, связанного с HSA, увеличится за счет рециркуляции молекулы при взаимодействии с FcRn.

Таблица 19. Сравнение кинетики связывания альбумина при pH 7.4 и 5.5 в буфере MES

Альбумин	pH	$k_a$ (1/Мс)	$k_d$ (1/с)	$KD$ (нМ)
Человек	7.4	$9,26 \text{ E}+03$	$3,88 \text{ E}-04$	41.9
	5.5	$9,44 \text{ E}+03$	$2,70 \text{ E}-04$	28.6
Макака-резус	7.4	$6,16 \text{ E}+03$	$2,95 \text{ E}-03$	479
	5.5	$7,57 \text{ E}+03$	$2,72 \text{ E}-03$	359

SABA1.2 связывается с доменами I и II, но не III молекулы HSA.

Сайт связывания SABA1.2 на молекуле альбумина был картирован с использованием рекомбинантных фрагментов HSA. Сайт связывания расположен на конце доменов I или II, тогда как с доменом III связывание не детектируется (фиг. 29). Так как домен III молекулы HSA преимущественно участвует во взаимодействии с FcRn, вероятность конкуренции SAA1.2 при связывании HSA с FcRn невысока, что также повышает вероятность использования механизма рециркуляции за счет FcRn для повышения времени полужизни.

Пример 5G. Фармакология варианта SABA1.2 в исследовании *in vivo*.

Для оценки фармакокинетики и иммуногенности SABA1.2 на яванских макаках были проведены

четырёхнедельные предварительные токсикологические исследования, при которых SABA1.2 вводили однократно в 2 концентрациях. Также фармакокинетика и иммуногенность оценивалась в трёхнедельных предварительных токсикологических исследованиях, включавших два варианта исследования, при которых белок вводили однократно внутривенно или подкожно. Также фармакокинетика SABA1.2 оценивалась в двух независимых предварительных токсикологических исследованиях при однократном введении белка на яванских макаках. Детекция SABA1.2 в образцах плазмы проводилась с помощью разработанного количественного анализа на основе ИФА.

SABA1.2 вводили обезьянам в дозировках 1 мг/кг и 10 мг/кг внутривенно. Для оценки параметров фармакокинетики применялся некомпартментальный анализ с помощью программного обеспечения WINNONLIN®. Как показано на фиг. 30 и по приведенным ниже параметрам, фармакокинетика SABA1.2 в описанном исследовании имеет дозозависимый характер, что определяется по площади под кривой концентрация-время (AUC). Клиренс (CL) SABA1.2 при 10 мг/кг составлял 0,15 мл/ч/кг, бета фаза времени полужизни ( $t_{1/2}$ ) составляла 143 ч, объем распределения (Vz) составлял 30 мл/кг, общая экспозиция лекарственного вещества (AUCall) составляла 5 609 457 ч·нмоль/л (табл. 20). Клиренс (CL) SABA1.2 при 1 мг/кг составлял 0,4 мл/ч/кг, бета фаза времени полужизни ( $t_{1/2}$ ) составляла 124 ч, объем распределения (Vz) составлял 72 мл/кг, общая экспозиция лекарственного вещества (AUCall) составляла 214 636 ч·нмоль/л (табл. 20).

После подкожного или внутривенного введения SABA1.2 профили фармакокинетики бета-фазы были сходны (фиг. 31). Клиренс (CL) SABA1.2 при внутривенном введении 1 мг/кг составлял 0,22 мл/ч/кг, бета фаза времени полужизни ( $t_{1/2}$ ) составляла 125 ч, объем распределения (Vz) составлял 40 мл/кг, общая экспозиция лекарственного вещества (AUCall) составляла 357 993 ч·нмоль/л (табл. 20). Клиренс (CL) SABA1.2 при подкожном введении 1 мг/кг составлял 0,32 мл/ч/кг, бета фаза времени полужизни ( $t_{1/2}$ ) составляла 134 ч, объем распределения (Vz) составлял 62 мл/кг, общая экспозиция лекарственного вещества (AUCall) составляла 251 339 ч·нмоль/л (табл. 20). Относительная биодоступность (F) при подкожном введении по сравнению с внутривенным составляла 0,7.

Таблица 20. Параметры фармакокинетики для SABA1.2 в исследованиях на обезьянах

Исследования №	1		2	
	Доза (мг/кг)	1	10	1
Способ введения	i.v.	i.v.	i.v.	s.c.
N	3	3	1	2
CL (мл/ч/кг)	0.4	0.15	0.22	0.32
Vz (мл/кг)	72	30	40	62
AUCall (ч·нмоль/л)	214,63 6	5,609,4 57	357,99 3	251,33 9
beta T1/2 (ч)	124	143	125	134
Биодоступность (F)	н/д	н/д	н/д	0.7

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение полипептида, связывающего PCSK9 (пропротеин конвертазы субтилизин/кексин типа 9), для лечения атеросклероза или гиперхолестеринемии, где полипептид включает десятый домен типа III фибронектина человека ( $^{10}\text{Fn3}$ ), в котором петля FG содержит последовательность формулы  $\text{EX}_4\text{X}_1\text{X}_5\text{X}_1\text{X}_1\text{X}_6\text{GYX}_4\text{HR}$  (SEQ ID NO: 451), где  $\text{X}_1$  представляет собой любую аминокислоту,  $\text{X}_4$  представляет собой Y или F,  $\text{X}_5$  представляет собой Y, F или W и  $\text{X}_6$  представляет собой S или A.

2. Применение по п.1, где указанный полипептид связывает PCSK9 с  $K_D$  менее чем 500 нМ.

3. Применение по любому из пп.1 или 2, где петля FG содержит фрагмент любой из последовательностей SEQ ID NO: 28-38 и 142-172, который выделен затемнением в табл. 3.

4. Применение по любому из пп.1-3, где петля FG содержит любую из последовательностей SEQ ID NO: 28-38 и 142-172.

5. Применение по любому из пп.1-4, где полипептид дополнительно включает петлю BC, содержащую последовательность формулы  $(\text{X}_1)_z\text{X}_2\text{G}$  (SEQ ID NO: 449), в которой  $\text{X}_1$  представляет собой любую аминокислоту, Z представляет собой число от 6 до 9 и  $\text{X}_2$  представляет собой Y или H.

6. Применение по п.5, где петля BC содержит фрагмент любой из последовательностей SEQ ID NO: 2-17, 107-135 и 301-303, который выделен затемнением в табл. 3.

7. Применение по любому из пп.5 или 6, где петля BC содержит любую из последовательностей

SEQ ID NO: 2-17, 107-135 и 301-303.

8. Применение по любому из пп.1-7, где полипептид дополнительно включает петлю DE, содержащую последовательность формулы  $X_1X_1X_1X_3$  (SEQ ID NO: 450), в которой  $X_1$  представляет собой любую аминокислоту и  $X_3$  представляет собой G или S.

9. Применение по п.8, где петля DE содержит фрагмент любой из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141, который выделен затемнением в табл. 3.

10. Применение по любому из пп.8 или 9, где петля DE содержит любую из последовательностей SEQ ID NO: 18-27 и 136-141.

11. Применение по любому из пп.8 или 9, где последовательности петель BC, DE и FG по меньшей мере на 80% идентичны любым из последовательностей SEQ ID NO: 2-38, 107-172 и 301-303.

12. Применение по п.11, где последовательности петель BC, DE и FG по меньшей мере на 80% идентичны последовательностям SEQ ID NO: 14, 25 и 37 соответственно.

13. Применение по любому из пп.1-12, где полипептид содержит аминокислотную последовательность, по меньшей мере на 80% идентичную любой из последовательностей SEQ ID NO: 39-76, 173-290 и 304-309.

14. Применение по п.13, где полипептид содержит аминокислотную последовательность  $^{10}\text{Fn3}$  домена, представляющую собой фрагмент 3-96 последовательности SEQ ID NO: 69.

15. Применение по п.11, где петля BC содержит последовательность SEQ ID NO: 14, петля DE содержит последовательность SEQ ID NO: 25 и петля FG содержит последовательность SEQ ID NO: 37.

16. Применение по п.1, где полипептид содержит SEQ ID NO: 82.

17. Применение по п.11, где петля BC содержит последовательность SEQ ID NO: 112, петля DE содержит последовательность SEQ ID NO: 138 и петля FG содержит последовательность SEQ ID NO: 156.

18. Применение по п.1, где полипептид содержит SEQ ID NO: 209, необязательно с удаленным His тэгом.

19. Применение по любому из пп.1-18, где полипептид дополнительно содержит одну или более фармакокинетических групп, выбранных из полиэтиленгликоля, сиаловой кислоты, Fc-фрагмента, части Fc-фрагмента, трансферрина, сывороточного альбумина, связывающего сывороточный альбумин белка и связывающего сывороточные иммуноглобулины белка.

20. Применение по п.19, где белок, связывающий сывороточный альбумин, содержит десятый домен типа III фибронектина человека ( $^{10}\text{Fn3}$ ).

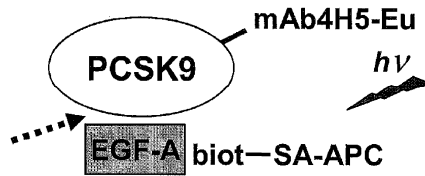
21. Применение по п.20, где домен  $^{10}\text{Fn3}$  связывает HSA.

22. Применение по п.21, где фармакокинетической группой является полиэтиленгликоль.

1459D05 MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWPPPSHGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PPGKGTAT  
 1784F03 MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWRPPPIHAYGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PIVEGTAT  
 1784F03-m1 MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWDAPIHAYGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PGSEGTAT  
 1784F03-m2 MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWDAPAHAYGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PGSKGTAT  
 1784F03-m3 MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWDAPAVTYGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PGSKGTAT  
 1813E02 MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWSPDPANGYGYRITYGETGGNSPVQEF TV PVGRGTAT  
 1923B02 MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWTPPP KGYGYRITYGETGGNSPVQEF TV PVGEGTAT  
 1923B02\_N82I MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWTPPP KGYGYRITYGETGGNSPVQEF TV PVGEGTAT  
 1923B02\_N82E MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWTPPP KGYGYRITYGETGGNSPVQEF TV PVGEGTAT  
 1923B02\_T80A MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWTPPP KGYGYRITYGETGGNSPVQEF TV PVGEGTAT  
 1922G04 MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWRPPSHAYGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PIGKGTAT  
 1922G04\_R25D MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWDPPSHAYGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PIGKGTAT  
 1922G04\_R25E MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWEPSSHAYGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PIGKGTAT  
 1922G04\_R25S MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWSPSSHAYGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PIGKGTAT  
 2012A04 MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWRPPSNHGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PVNEGTAT  
 2013E01 MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWVPPSDDYGYRITYGETGGNSPVQEF TV PIGKGTAT  
 2011H05 MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWVPPSHAYGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PVVGVTAT  
 2011H05\_V23D MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWDPPSHAYGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PVVGVTAT  
 2011H05\_V23E MGVS DVPRDLEVVAAATPTSLLI SWEPSSHAYGYYRITYGETGGNSPVQEF TV PVVGVTAT

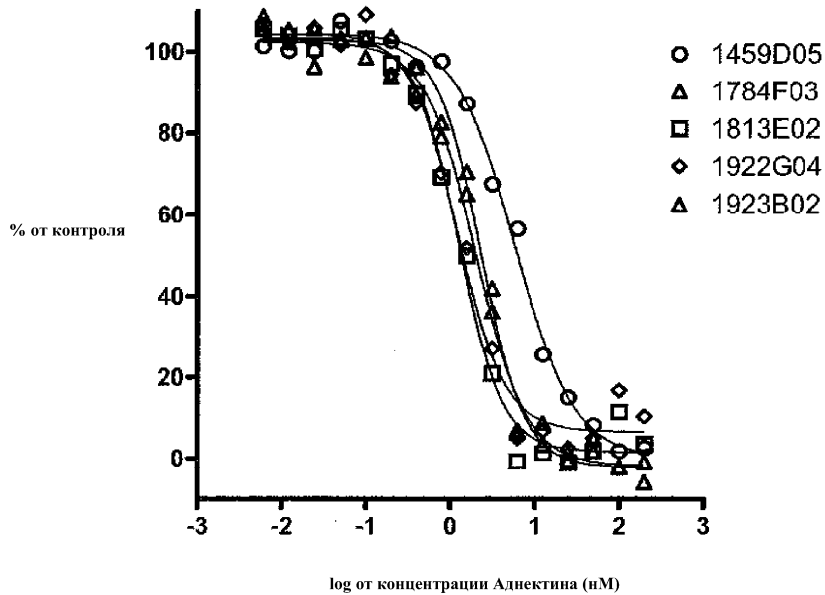
1459D05 ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YFKHSGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 39)  
 1784F03 ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YFKHSGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 41)  
 1784F03-m1 ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YFKHSGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 43)  
 1784F03-m2 ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YFKHSGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 45)  
 1784F03-m3 ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YFKHSGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 47)  
 1813E02 ISGLKPGVDYTIIVYAVEY TYKSGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 49)  
 1923B02 ISGLKPGVDYTIIVYAVEY TYNGAGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 51)  
 1923B02\_N82I ISGLKPGVDYTIIVYAVEY TYIGAGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 53)  
 1923B02\_N82E ISGLKPGVDYTIIVYAVEY TYEGAGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 55)  
 1923B02\_T80A ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YAYNGAGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 57)  
 1922G04 ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YFPWKGSGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 59)  
 1922G04\_R25D ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YFPWKGSGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 61)  
 1922G04\_R25E ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YFPWKGSGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 63)  
 1922G04\_R25S ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YFPWKGSGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 65)  
 2012A04 ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YFPKWSGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 67)  
 2013E01 ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YFPWPHAGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 69)  
 2011H05 ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YAFEGAGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 71)  
 2011H05\_V23D ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YAFEGAGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 73)  
 2011H05\_V23E ISGLKPGVDYTIIVYAVEY YAFEGAGYYHRPISINYTEIDKPSQHNNHHH (SEQ ID NO: 75)

Фиг. 1



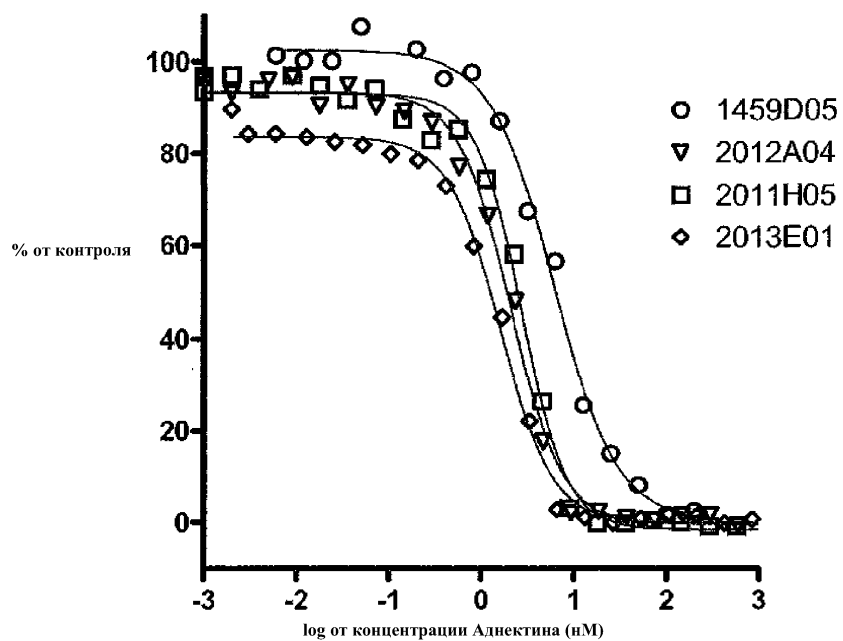
Фиг. 2

A.



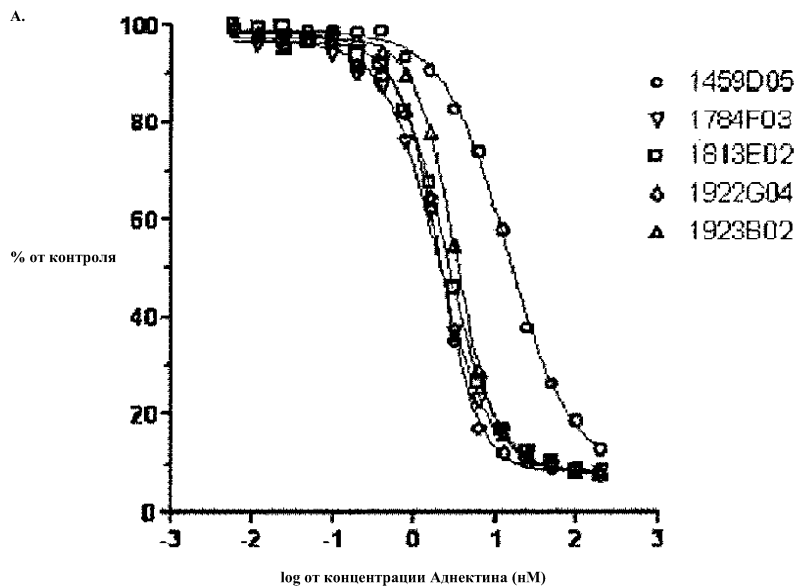


B.

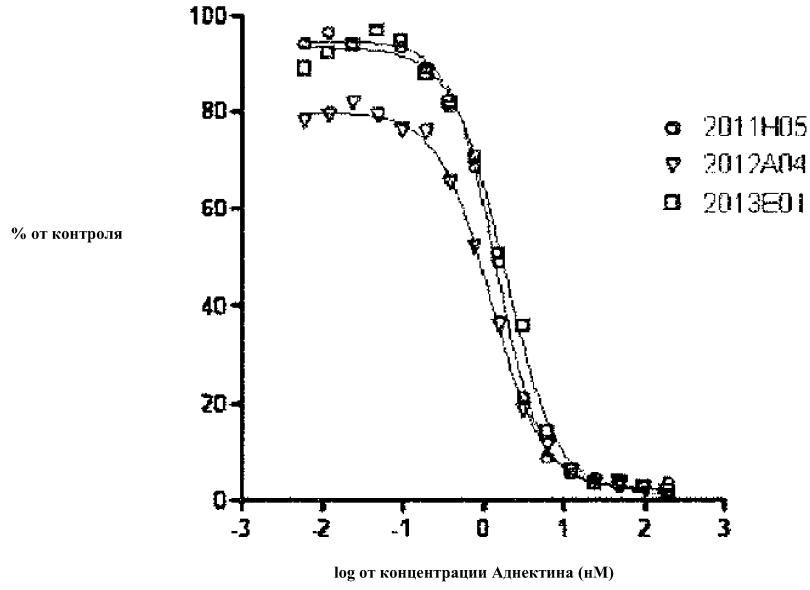


Фиг. 3

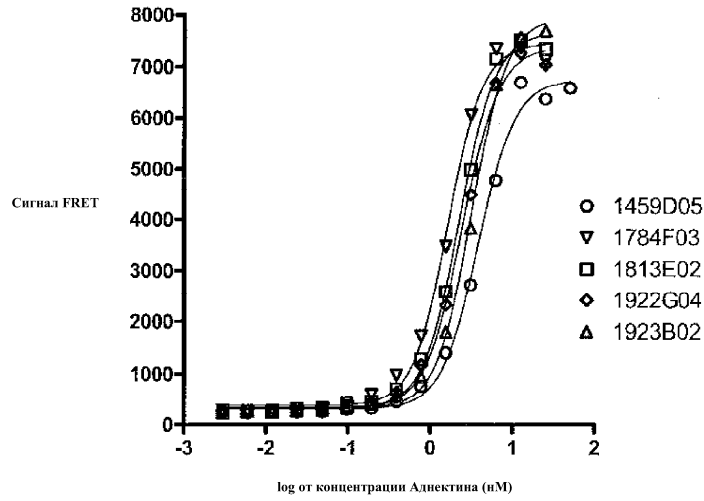
A.



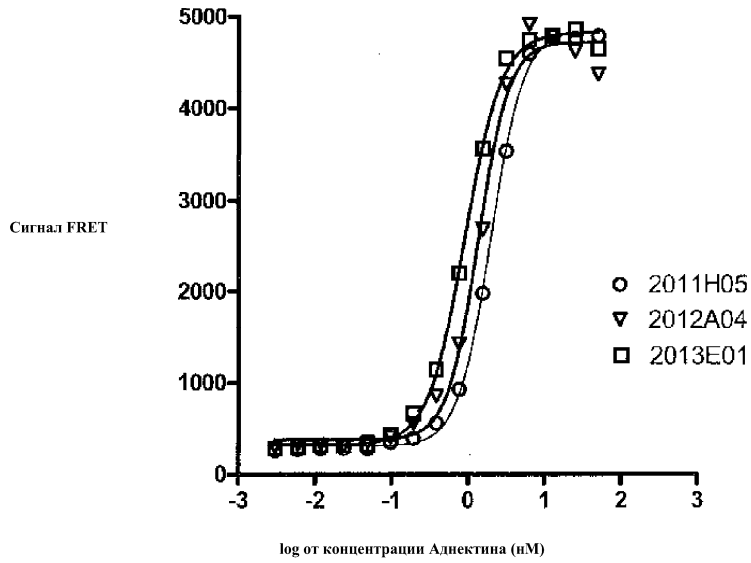
В.

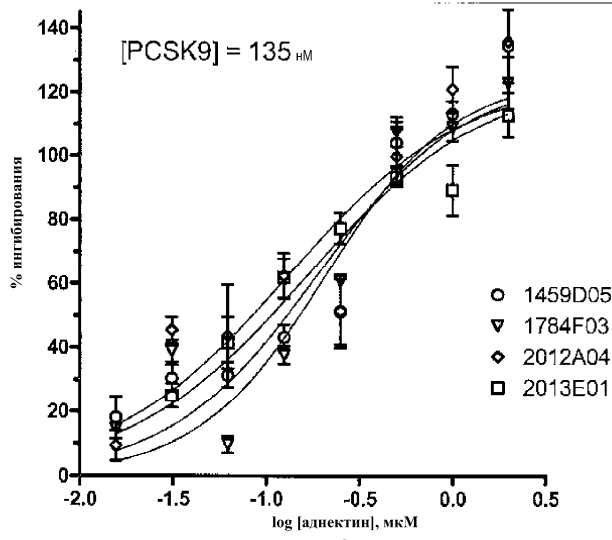


А.



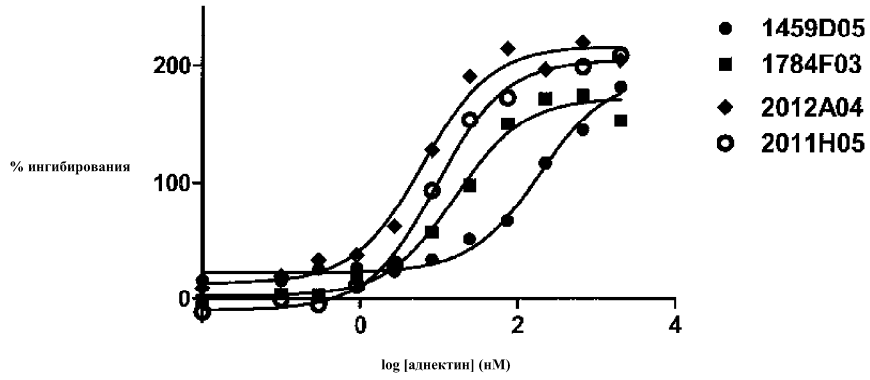
В.



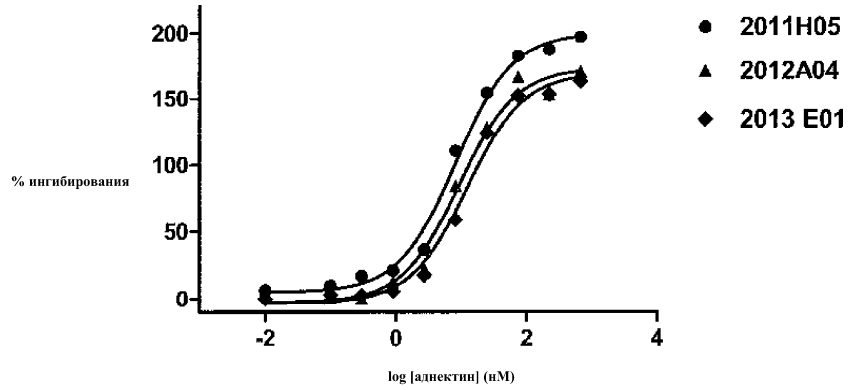


Фиг. 6

А.

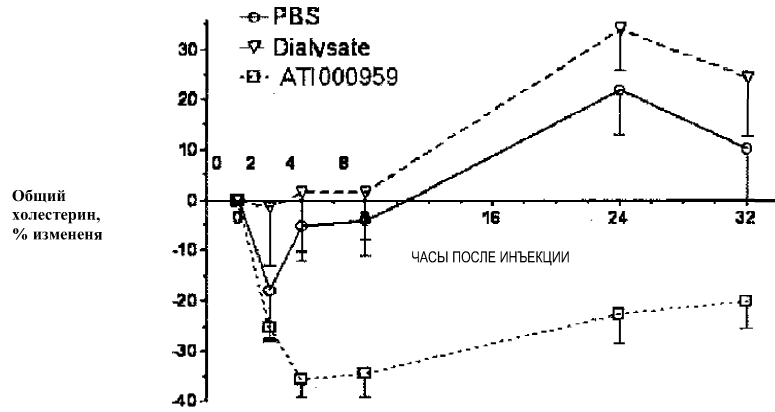


В.



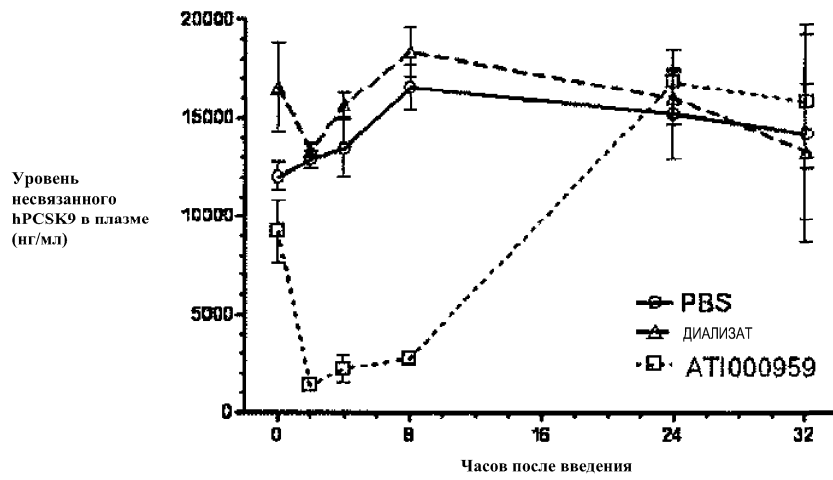
Фиг. 7

A.



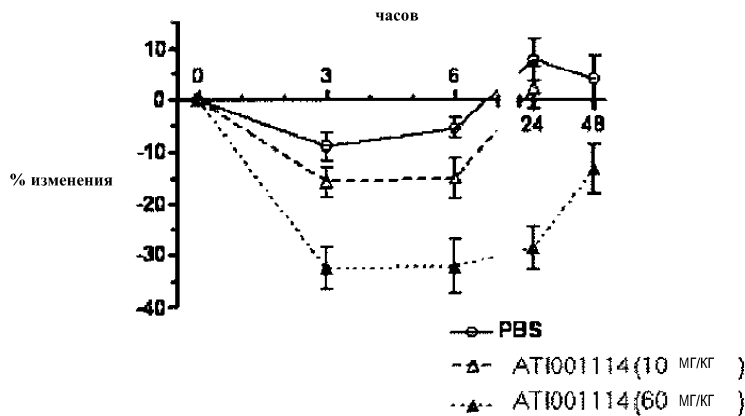
n = 5 мышей/группу

B.



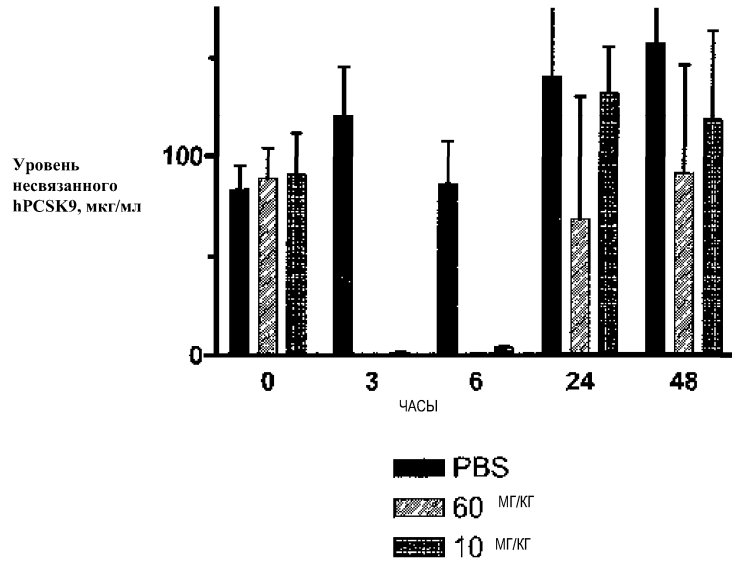
Фиг. 8

A.



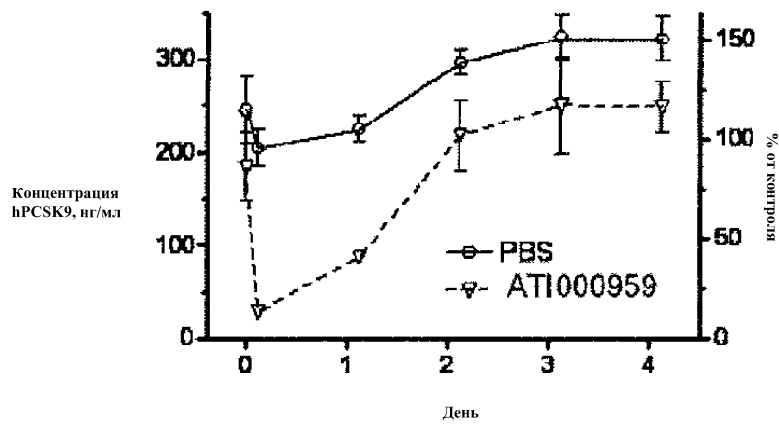
среднее значение, ± SEM  
 n = 8 мышей в группе  
 однократное внутривенное введение во время 0ч

В.

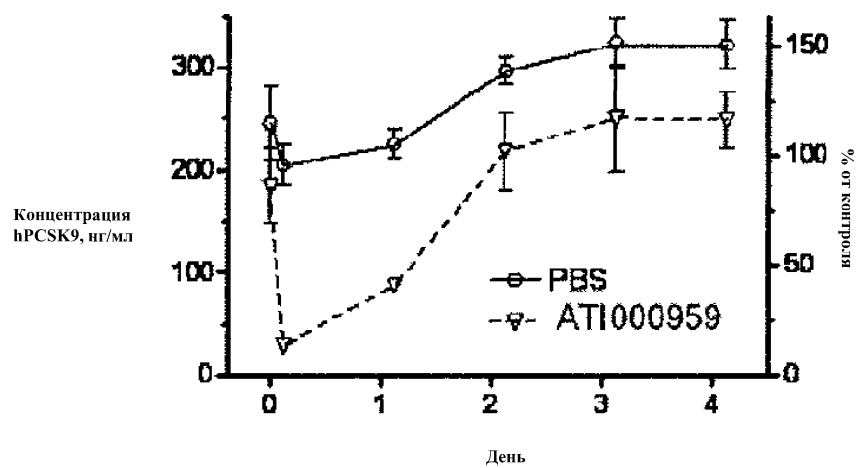


Фиг. 9

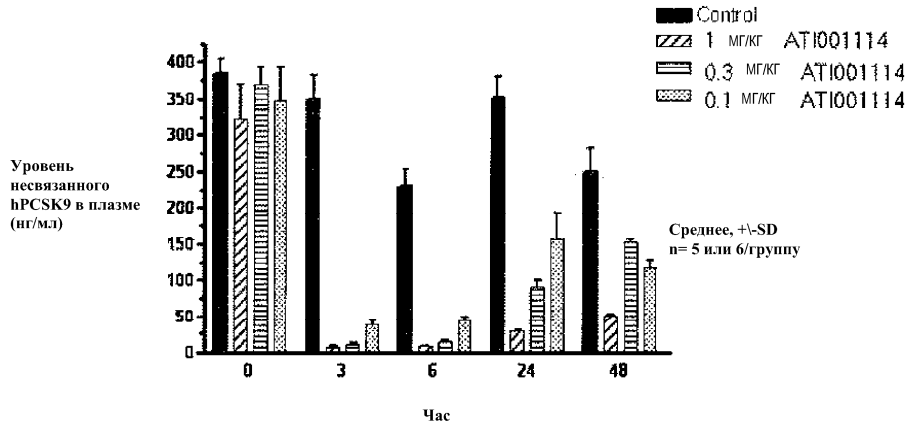
А.



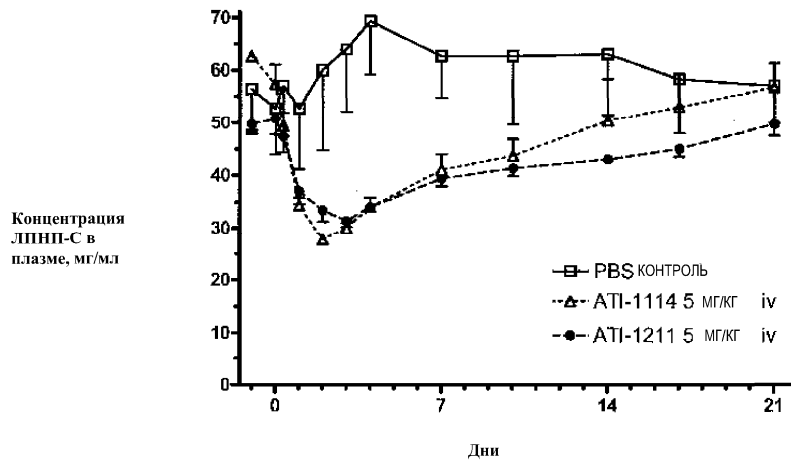
В.



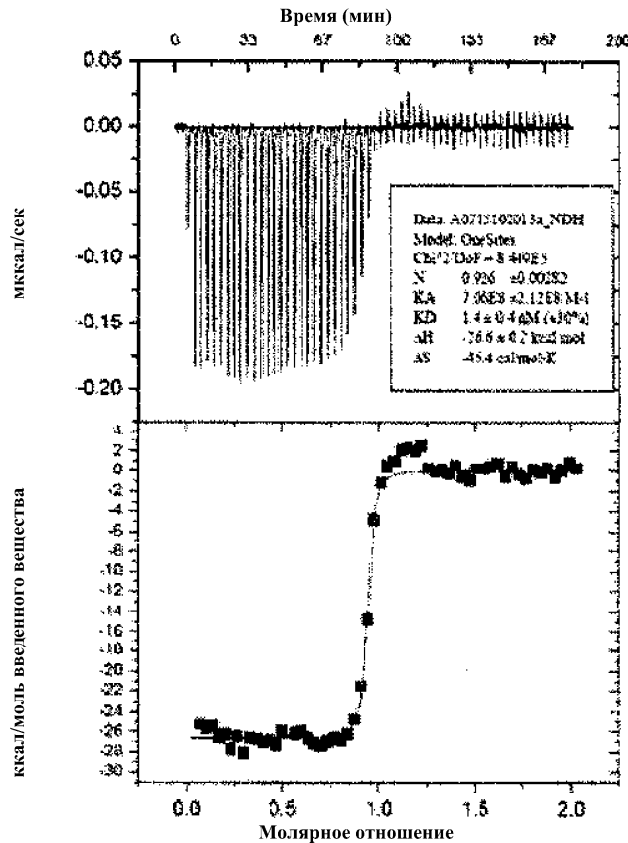
Фиг. 10

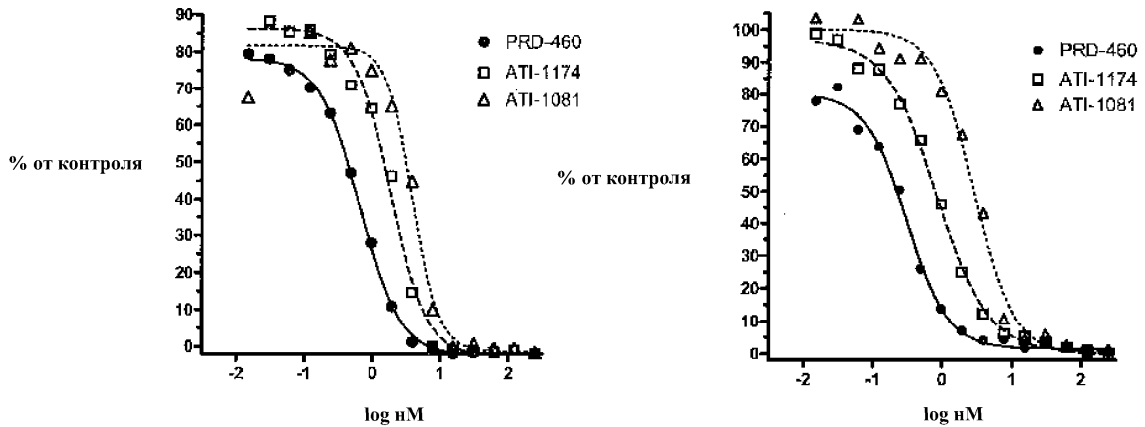
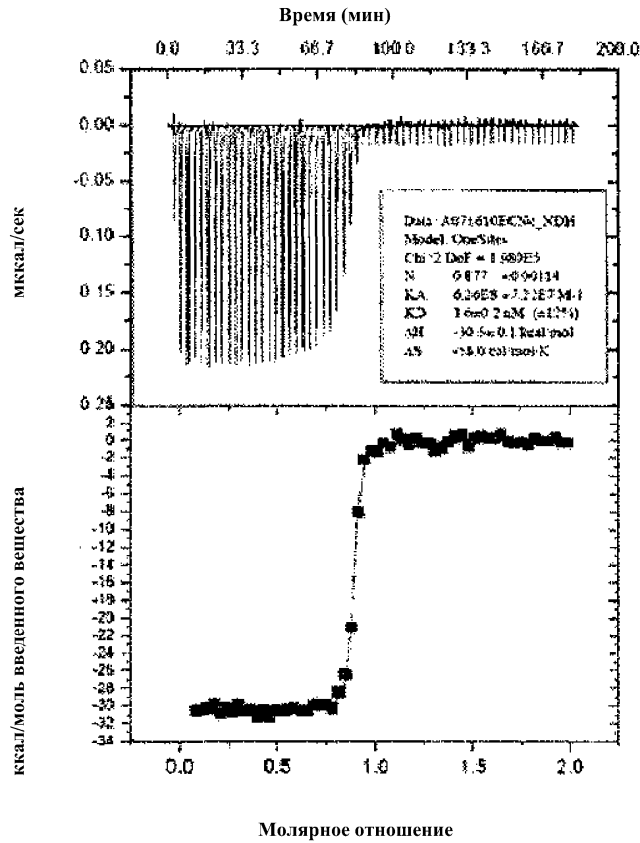


Фиг. 11

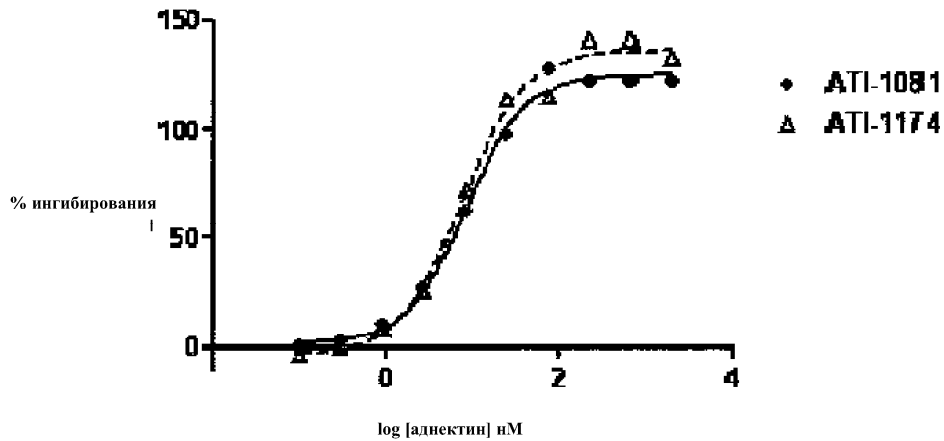


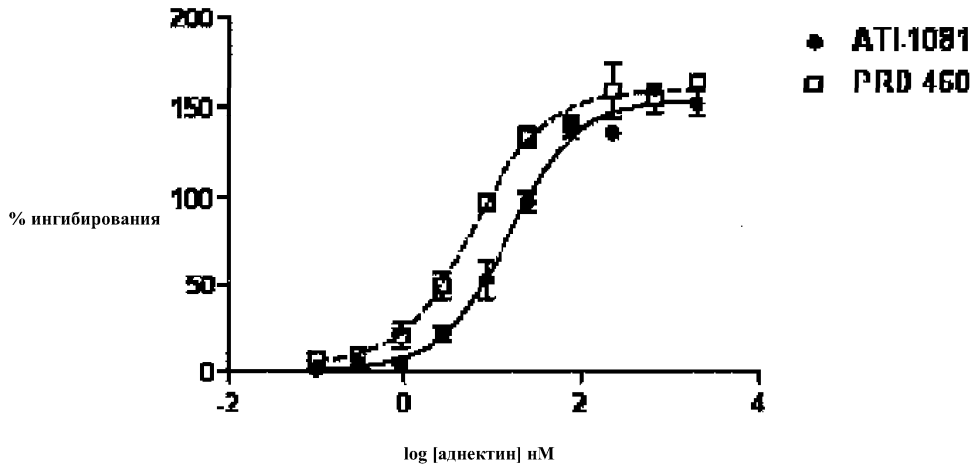
Фиг. 12



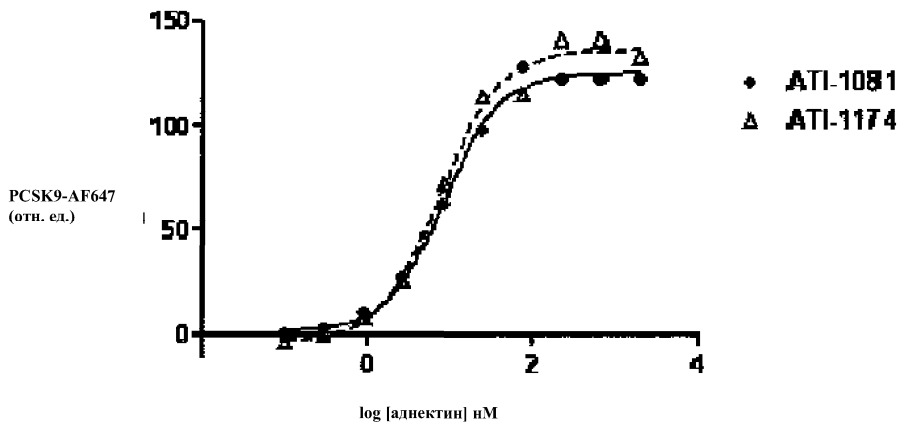


Фиг. 14

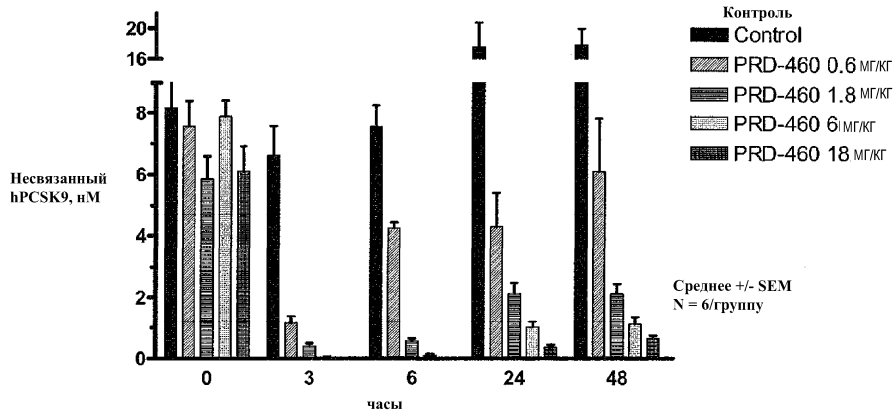




Фиг. 15

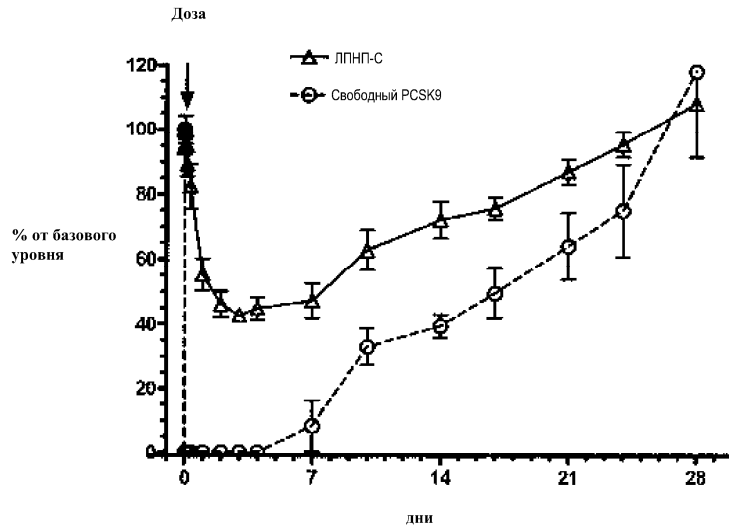


Фиг. 16

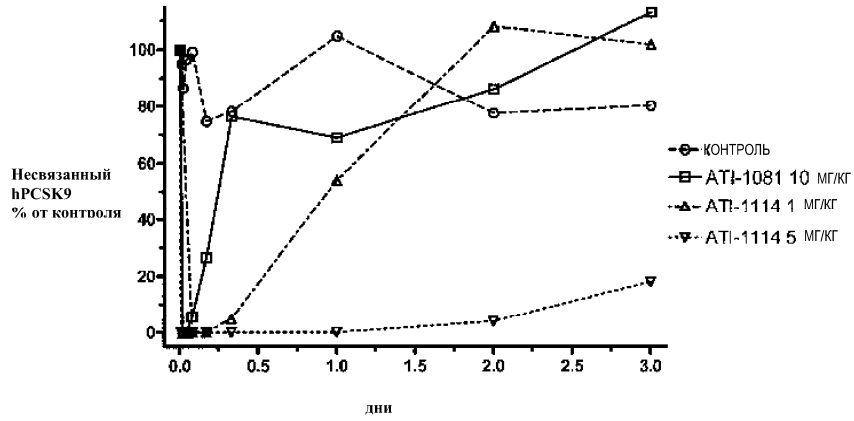


Фиг. 17

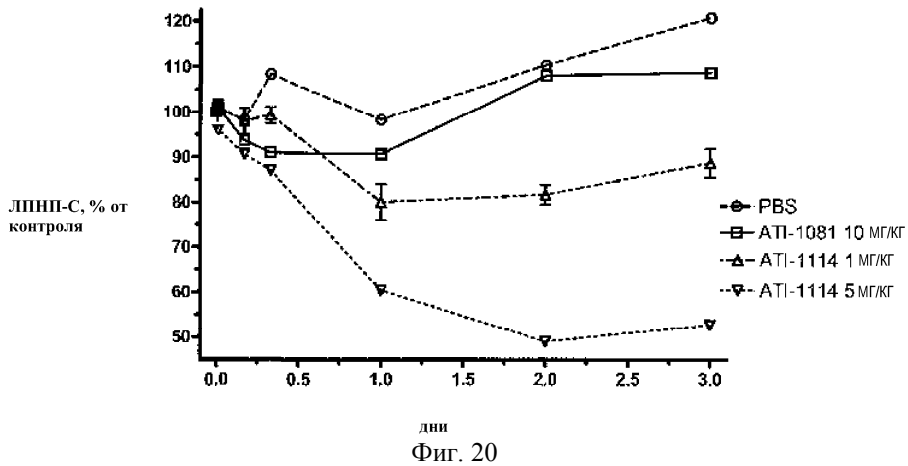




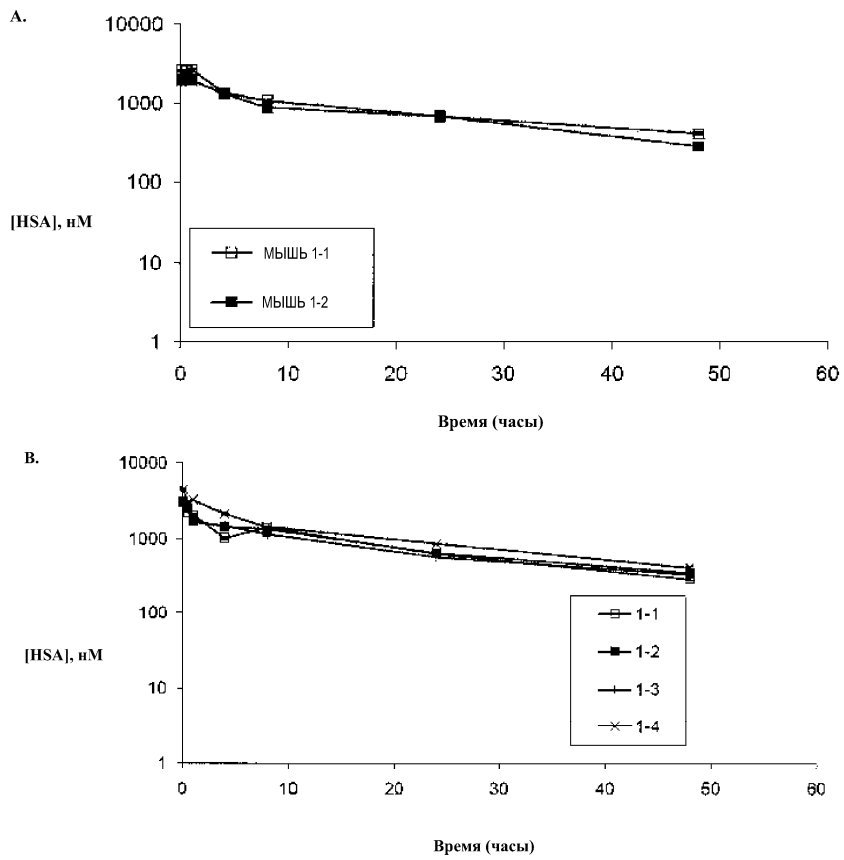
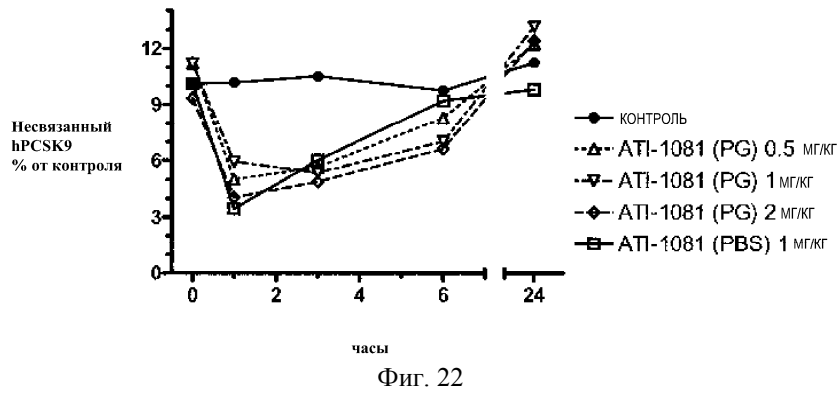
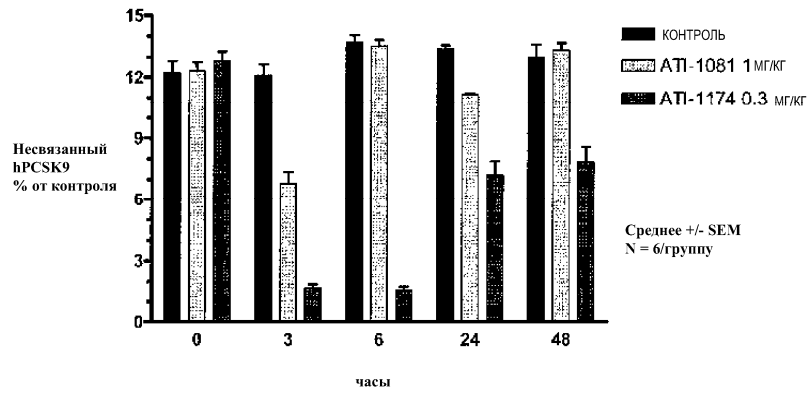
Фиг. 18

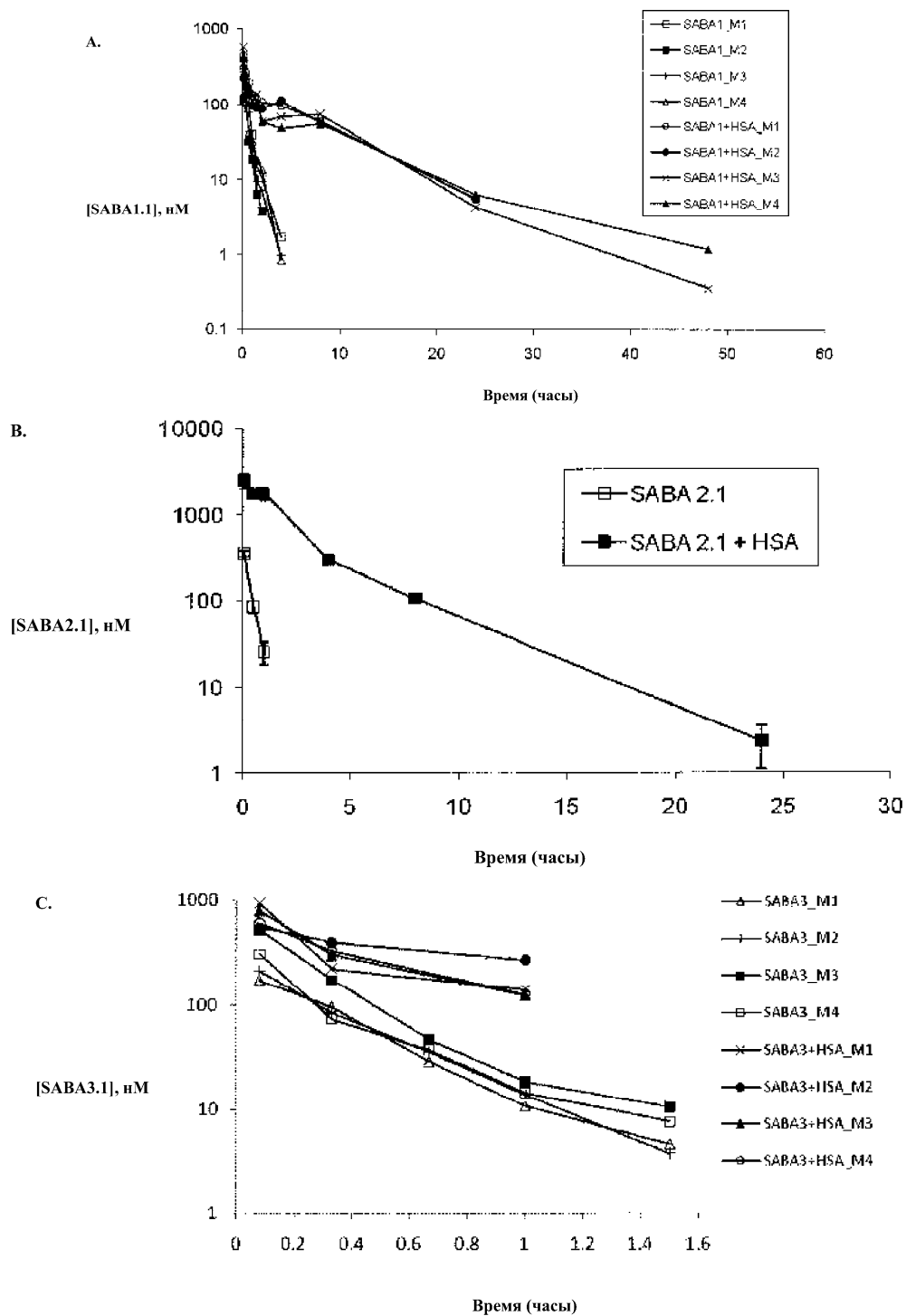


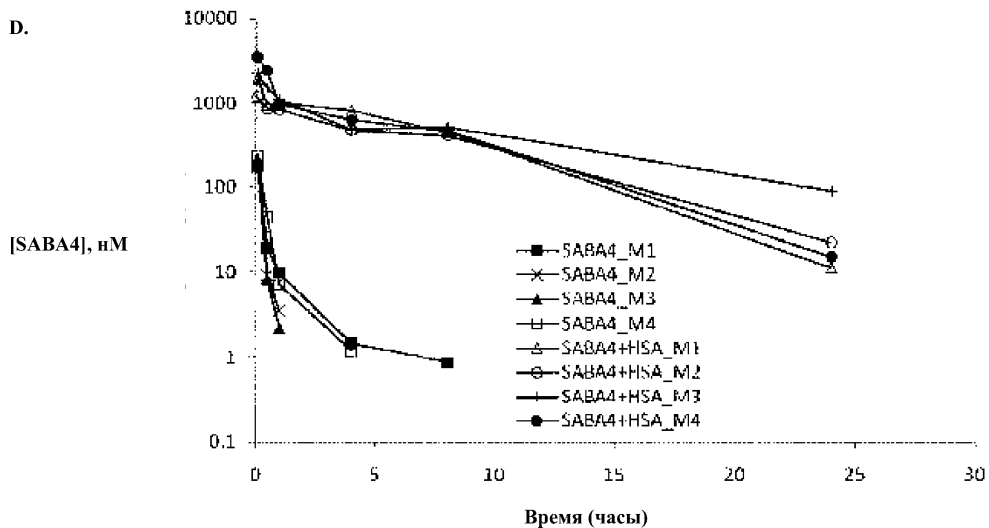
Фиг. 19



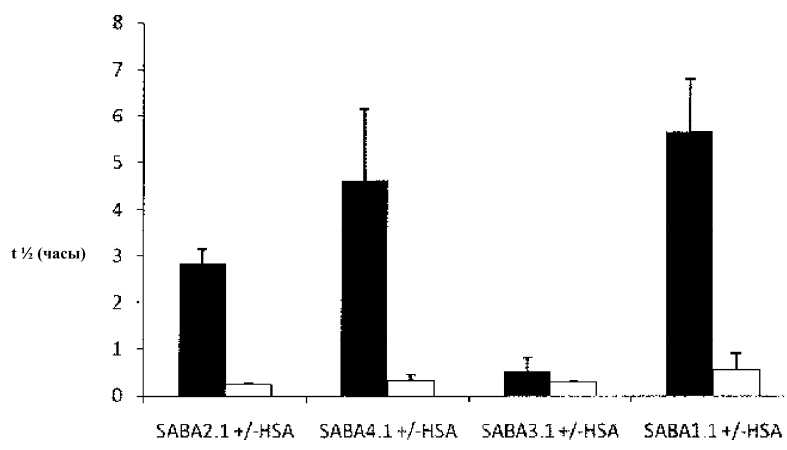
Фиг. 20



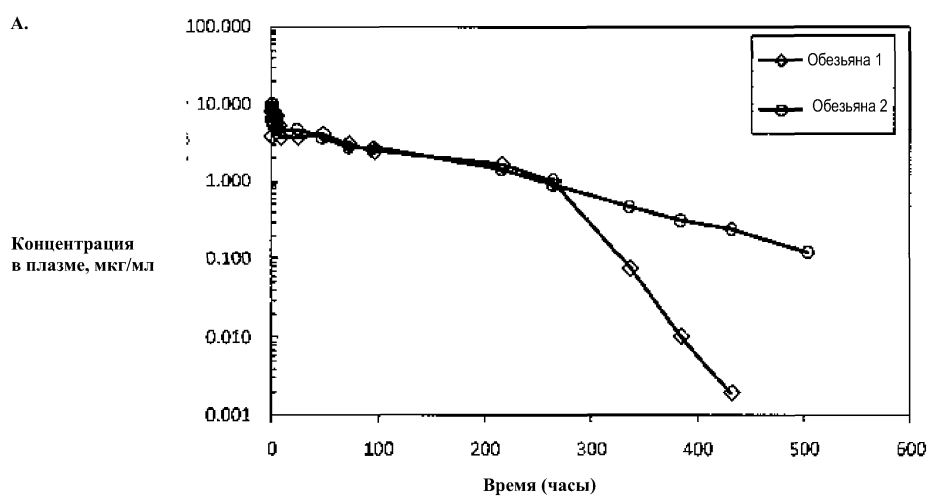


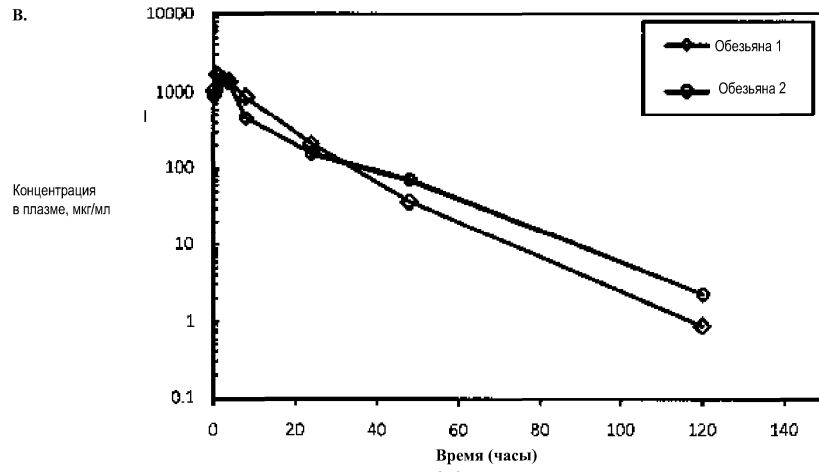


Фиг. 24

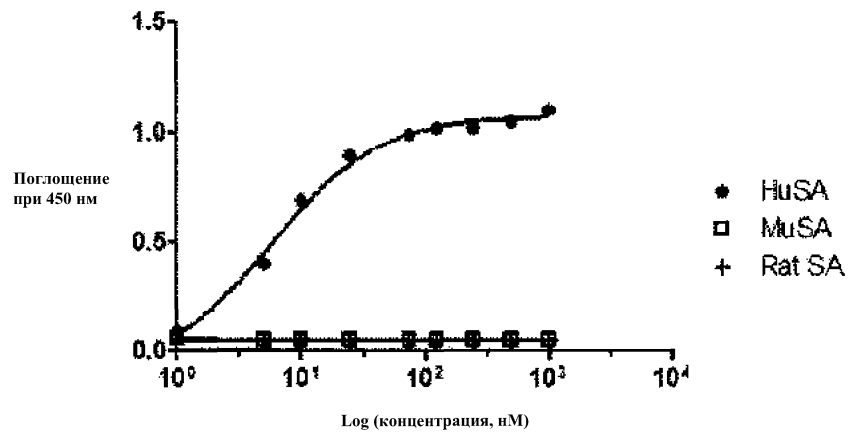


Фиг. 25

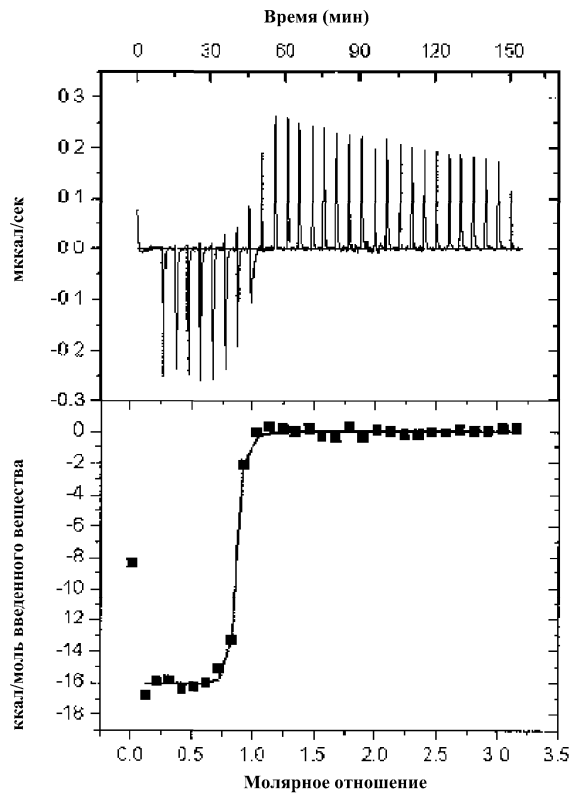




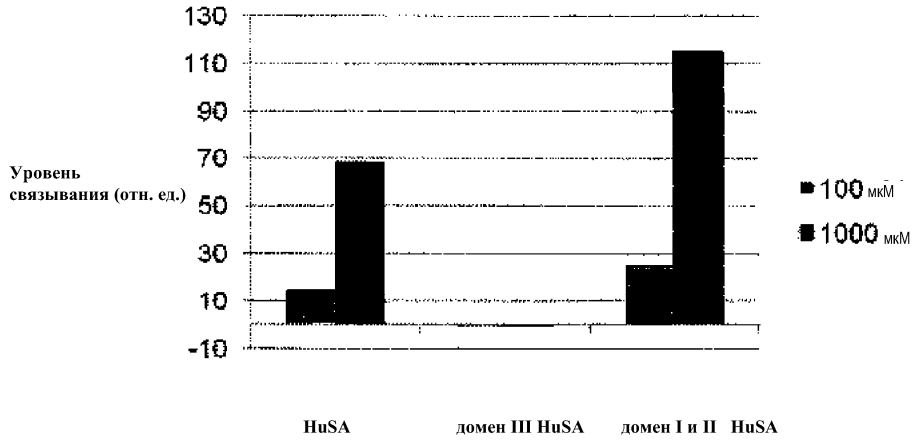
Фиг. 26



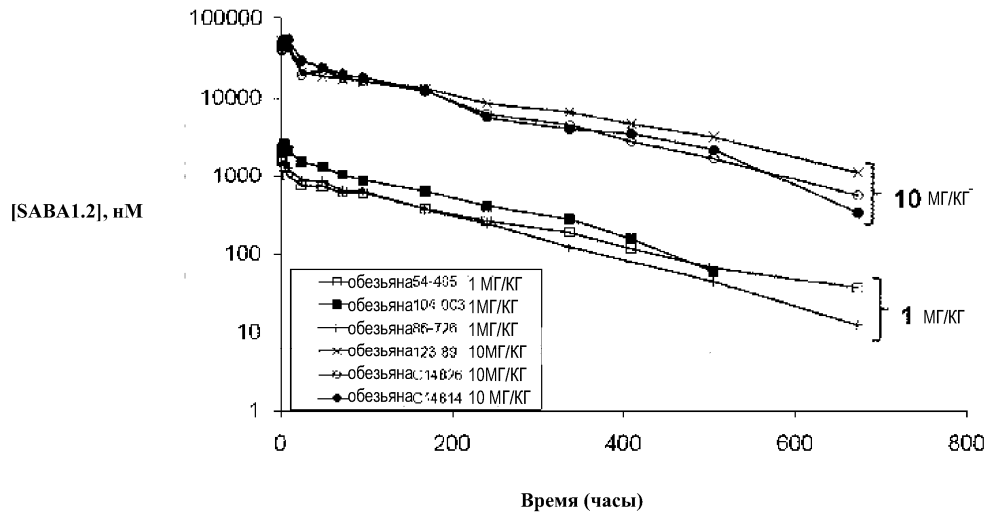
Фиг. 27



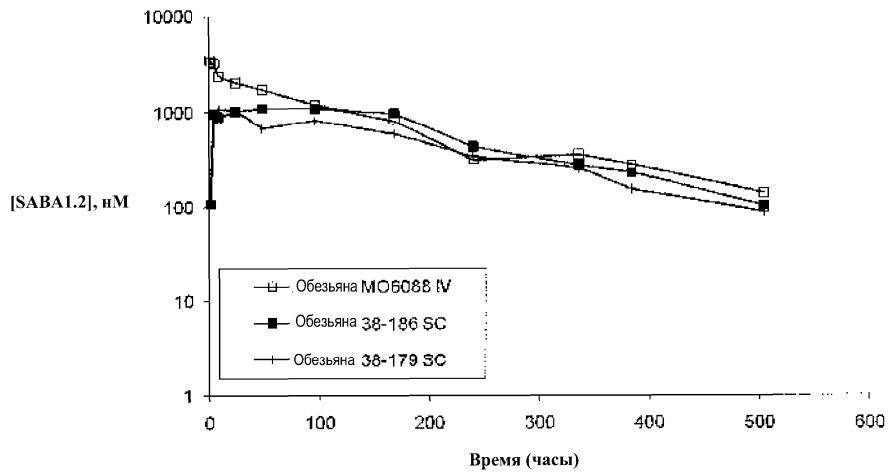
Фиг. 28



Фиг. 29



Фиг. 30



Фиг. 31

