

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202190062** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.04.07

(51) Int. Cl. **C07K 19/00** (2006.01)
A61K 47/50 (2017.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.06.18

(54) СЛИТЫЕ БЕЛКИ, СОДЕРЖАЩИЕ ПРОГРАНУЛИН

(31) 62/686,579; 62/746,338

(32) 2018.06.18; 2018.10.16

(33) US

(86) PCT/US2019/037695

(87) WO 2019/246071 2019.12.26

(71) Заявитель:
ДЕНАЛИ ТЕРАПЬЮТИКС ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Ди Паоло Гилберт, Логан Тодд П.,
Монро Кэтрин М., Шривастава
Анкита, Ван Ленгерих Бетина (US)**

(74) Представитель:
Фелицына С.Б. (RU)

(57) В изобретении предложены слитые белки, которые содержат програнулин и полипептид Fc. В данном документе также предложены способы применения таких белков для лечения програнулинассоциированных расстройств (например, нейродегенеративного заболевания, такого как лобно-височная деменция (ЛВД)).

A1

202190062

202190062

A1

СЛИТЫЕ БЕЛКИ, СОДЕРЖАЩИЕ ПРОГРАНУЛИН

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62/686 579, поданной 18 июня 2018 г., и предварительной заявке США № 62/746 338, поданной 16 октября 2018 г., раскрытия каждой из которых включено в данный документ в полном объеме посредством ссылки для всех целей.

Уровень техники

Лобно-височная деменция (ЛВД) представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное расстройство, которое приходится на 5-10% всех пациентов с деменцией и 10-20% пациентов с началом деменции до 65 лет (Rademakers et al., *Nat Rev Neurol.* 8(8):423-34, 2012). В то время как несколько генов были связаны с ЛВД, одним из наиболее часто мутирующих генов при ЛВД является *GRN*, который отображается на хромосоме 17q21 человека и кодирует богатый цистеином белок програнулин (PGRN) (также известный как проэпителин и акрогранин). Высокопенетрантные мутации в *GRN* были впервые зарегистрированы в 2006 году в качестве причины аутосомно-доминантных форм семейной ЛВД (Baker et al., *Nature.* 442(7105):916-9, 2006; Cruts et al., *Nature.* 2006 Aug 24;442(7105):920-4; Gass et al., *Hum Mol Genet.* 15(20):2988-3001, 2006). Недавние оценки показывают, что мутации *GRN* приходятся на 5-20% пациентов с ЛВД с положительным семейным анамнезом и 1-5% спорадических случаев (Rademakers et al., *выше*).

Описание

В данном документе предложены слитые белки, содержащие полипептид програнулина или его вариант, и способы их применения для лечения програнулин-ассоциированных расстройств (*например*, нейродегенеративного заболевания, такого как лобно-височная деменция (ЛВД)).

Аспект раскрытия включает белок, содержащий: (a) модифицированный димер полипептида Fc, который специфически связывает TfR; и (b) полипептид програнулина. В некоторых вариантах осуществления белок используется в терапии. В некоторых вариантах осуществления белок используется для лечения нейродегенеративного заболевания.

Другой аспект раскрытия включает белок, содержащий: (a) полипептид Fc; и (b) полипептид програнулина. В некоторых вариантах осуществления данного аспекта полипептид Fc: (i) не включает переменный домен, (ii) включает шарнирную или

частичную шарнирную область и/или (iii) включает модификации, так что полипептид Fc специфически связывает рецептор трансферрина.

В другом аспекте в данном документе предложен белок, содержащий: (a) единственный полипептид програнулина или его вариант; (b) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина или его вариантом (a); и (c) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc не включает последовательность вариабельной области тяжелой и/или легкой цепи иммуноглобулина или ее антигенсвязывающую часть. Белок может содержать только один полипептид програнулина или его вариант.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта полипептид програнулина содержит аминокислотную последовательность, имеющую более 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:212. В определенных вариантах осуществления полипептид програнулина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:212.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc связан с полипептидом програнулина или его вариантом пептидной связью или полипептидным линкером. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер имеет длину от 1 до 50, от 1 до 25, от 1 до 20 или от 1 до 10 аминокислот. Например, полипептидный линкер может иметь длину от 3 до 50, от 3 до 25, от 5 до 50, от 5 до 25, от 5 до 20 или от 10 до 25 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер является гибким полипептидным линкером. Гибкий полипептидный линкер может представлять собой линкер, богатый глицином, *например*, G₄S (SEQ ID NO:277) или (G₄S)₂ (SEQ ID NO:276).

В некоторых вариантах осуществления N-конец или C-конец первого полипептида Fc связан с полипептидом програнулина.

В другом аспекте в данном документе предложен белок, содержащий: (a) первый полипептид Fc, который связан с первым полипептидом програнулина или его вариантом; и (b) второй полипептид Fc, который связан со вторым полипептидом програнулина или его вариантом, причем первый полипептид Fc и второй полипептид Fc образуют димер Fc и, причем первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с рецептором трансферрина.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc не включает последовательность вариабельной области тяжелой и/или легкой цепи иммуноглобулина или ее антигенсвязывающую часть.

В некоторых вариантах осуществления каждый из первого и второго полипептидов програнулина содержит аминокислотную последовательность, имеющую более 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:212. В определенных вариантах осуществления каждый из первого и второго полипептидов програнулина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:212.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc связан с первым полипептидом програнулина или его вариантом пептидной связью или полипептидным линкером, и причем второй полипептид Fc связан со вторым полипептидом програнулина или его вариантом пептидной связью или полипептидным линкером. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер имеет длину от 1 до 50, от 1 до 25, от 1 до 20 или от 1 до 10 аминокислот. Например, полипептидный линкер может иметь длину от 3 до 50, от 3 до 25, от 5 до 50, от 5 до 25, от 5 до 20 или от 10 до 25 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер является гибким полипептидным линкером. Гибкий полипептидный линкер может представлять собой линкер, богатый глицином, *например*, G₄S (SEQ ID NO:277) или (G₄S)₂ (SEQ ID NO:276). В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc не включает последовательность вариабельной области тяжелой и/или легкой цепи иммуноглобулина или ее антигенсвязывающую часть.

В некоторых вариантах осуществления N-конец или C-конец первого полипептида Fc связан с первым полипептидом програнулина, а N-конец или C-конец второго полипептида Fc связан со вторым полипептидом програнулина.

В некоторых вариантах осуществления N-конец первого полипептида Fc связан с C-концом первого полипептида програнулина, а N-конец второго полипептида Fc связан с C-концом второго полипептида програнулина.

В некоторых вариантах осуществления N-конец первого полипептида Fc связан с C-концом первого полипептида програнулина, а C-конец второго полипептида Fc связан с N-концом второго полипептида програнулина.

В некоторых вариантах осуществления C-конец первого полипептида Fc связан с N-концом первого полипептида програнулина, а C-конец второго полипептида Fc связан с N-концом второго полипептида програнулина.

В некоторых вариантах осуществления двух предыдущих аспектов первый полипептид Fc представляет собой модифицированный полипептид Fc и/или второй полипептид Fc представляет собой модифицированный полипептид Fc. В некоторых вариантах осуществления каждый из первого полипептида Fc и второго полипептида Fc

содержит модификации, которые способствуют гетеродимеризации. В некоторых вариантах осуществления димер Fc представляет собой гетеродимер Fc.

В некоторых вариантах осуществления предыдущих двух аспектов один из полипептидов Fc имеет замену T366W, а другой полипептид Fc имеет замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W.

В некоторых вариантах осуществления первого аспекта первый полипептид Fc связан с полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а второй полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:261.

В некоторых вариантах осуществления второго аспекта первый полипептид Fc связан с первым полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 213, 214, 225 и 226, а второй полипептид Fc связан со вторым полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:237, 238, 249 и 250.

В некоторых вариантах осуществления двух предыдущих аспектов первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V.

В некоторых вариантах осуществления первого аспекта первый полипептид Fc связан с полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:237, 238, 249 и 250, а второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO:267.

В некоторых вариантах осуществления второго аспекта первый полипептид Fc связан с первым полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 237, 238, 249 и 250, а второй полипептид Fc связан со вторым полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит нативный сайт связывания FcRn.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и второй полипептид Fc не обладают эффекторной функцией.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc включает модификацию, которая снижает эффекторную функцию. В определенных вариантах осуществления модификация, которая снижает эффекторную

функцию, представляет собой замены Ala в положении 234 и Ala в положении 235 в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит аминокислотные изменения относительно нативной последовательности Fc, которые увеличивают период полужизни полипептида Fc в сыворотке. В определенных вариантах осуществления аминокислотные изменения включают замены Leu в положении 428 и Ser в положении 434 в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления аминокислотные изменения включают замену Ser или Ala в положении 434 в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с рецептором трансферрина. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc связывается с апикальным доменом рецептора трансферрина.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит по меньшей мере две замены в положениях, выбранных из группы, состоящей из 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, в соответствии с нумерацией EU. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc включает замены по меньшей мере в трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или девяти положениях. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc дополнительно содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих 380, 391, 392 и 415, в соответствии с нумерацией EU. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc дополнительно содержит одну, две или три замены в положениях, включающих 414, 424 и 426, в соответствии с нумерацией EU. В конкретных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит Trp в положении 388. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит ароматическую аминокислоту в положении 421 (*например*, Trp или Phe в положении 421).

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит по меньшей мере одно положение, выбранное из следующего: положение 380 представляет собой Trp, Leu или Glu; положение 384 представляет собой Tug или Phe; положение 386 представляет собой Thr; положение 387 представляет собой Glu; положение 388 представляет собой Trp; положение 389 представляет собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390 представляет собой Ser или Asn; положение 413 представляет собой Thr или Ser; положение 415 представляет собой Glu или Ser; положение 416

представляет собой Glu; а положение 421 представляет собой Phe.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 11 положений, выбранных из следующего: положение 380 представляет собой Trp, Leu или Glu; положение 384 представляет собой Tyr или Phe; положение 386 представляет собой Thr; положение 387 представляет собой Glu; положение 388 представляет собой Trp; положение 389 представляет собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390 представляет собой Ser или Asn; положение 413 представляет собой Thr или Ser; положение 415 представляет собой Glu или Ser; положение 416 представляет собой Glu; а положение 421 представляет собой Phe. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит 11 следующих положений: положение 380 представляет собой Trp, Leu или Glu; положение 384 представляет собой Tyr или Phe; положение 386 представляет собой Thr; положение 387 представляет собой Glu; положение 388 представляет собой Trp; положение 389 представляет собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390 представляет собой Ser или Asn; положение 413 представляет собой Thr или Ser; положение 415 представляет собой Glu или Ser; положение 416 представляет собой Glu; а положение 421 представляет собой Phe.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc имеет домен CH3 с по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любыми аминокислотами 111-217 из SEQ ID NO:34-38, 58, 60-90, 136 и 137-210.

В определенных вариантах осуществления остатки по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 положений, соответствующих положениям индекса EU 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 413, 414, 415, 416, 421, 424 и 426 любой из SEQ ID NO:34-38, 58, 60-90, 136 и 137-210, не удалены или не заменены. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:136-210. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:136, 138, 150, 162, 174, 186 и 198. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:150. В определенных вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:136.

В некоторых вариантах осуществления связывание белка с рецептором трансферрина существенно не ингибирует связывание трансферрина с рецептором

трансферрина.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc имеет идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 75% или по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92% или 95% по сравнению с соответствующим полипептидом Fc дикого типа. Соответствующий полипептид Fc дикого типа может представлять собой полипептид Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека.

В некоторых вариантах осуществления поглощение полипептида програнулина головным мозгом по меньшей мере в десять раз больше по сравнению с поглощением полипептида програнулина в отсутствие первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc, или по сравнению с поглощением полипептида програнулина без модификаций первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc, которые приводят к связыванию рецептора трансферрина.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc не является модифицированным для связывания с рецептором гематоэнцефалического барьера, а второй полипептид Fc является модифицированным для специфического связывания с рецептором трансферрина. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc является модифицированным для специфического связывания с рецептором трансферрина, а второй полипептид Fc не является модифицированным для связывания с рецептором гематоэнцефалического барьера.

В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина или его вариант связывается с сортилином или просапозинном. В конкретных вариантах осуществления полипептид програнулина или его вариант связывается с сортилином.

В другом аспекте в данном документе предложен белок, содержащий: (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» T366W в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:261.

В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc дополнительно содержит TfR-связывающие мутации.

В некоторых вариантах осуществления (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:273.

В другом аспекте, в данном документе предложен белок, содержащий: (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем первый полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» T366W, а второй полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:237, 238, 249 и 250, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:267.

В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc дополнительно содержит Tfr-связывающие мутации.

В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность SEQ ID NO:274 или 275, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:267.

В другом аспекте в данном документе предложен белок, содержащий: (a) первый полипептид Fc, который связан с первым полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который связан со вторым полипептидом програнулина через полипептидный линкер, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc, первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, второй Fc полипептид содержит мутацию типа «выступа» T366W, и причем N-конец первого полипептида програнулина связан с C-концом первого полипептида Fc через полипептидный линкер, а N-конец второго полипептида програнулина связан с C-концом второго полипептида Fc через полипептидный линкер.

В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность SEQ ID NO:213 или 214, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:237 или 238.

В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc дополнительно содержит Tfr-связывающие мутации.

В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность SEQ ID NO:213 или 214, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:274.

В другом аспекте в данном документе предложен белок, содержащий: (a) первый полипептид Fc, который связан с первым полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который связан со вторым полипептидом програнулина через полипептидный линкер, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc, первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, второй Fc полипептид содержит мутацию типа «выступа» T366W, и причем C-конец первого полипептида програнулина связан с N-

концом первого полипептида Fc через полипептидный линкер, а С-конец второго полипептида програнулина связан с N-концом второго полипептида Fc через полипептидный линкер.

В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность SEQ ID NO:225 или 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:249 или 250.

В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc дополнительно содержит TfR-связывающие мутации.

В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность SEQ ID NO:225 или 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:275.

В другом аспекте в данном документе предложен белок, содержащий: (a) первый полипептид Fc, который связан с первым полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который связан со вторым полипептидом програнулина через полипептидный линкер, причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc, первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, второй Fc полипептид содержит мутацию типа «выступа» T366W, и причем N-конец первого полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc через полипептидный линкер, а С-конец второго полипептида програнулина связан с N-концом второго полипептида Fc через полипептидный линкер.

В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность SEQ ID NO:213 или 214, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:249 или 250.

В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc дополнительно содержит TfR-связывающие мутации.

В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность SEQ ID NO:213 или 214, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:275.

В другом аспекте в данном документе предложен белок, содержащий: (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» T366W в соответствии со схемой нумерации EU и TfR-связывающие мутации.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:281.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта (a) содержит любую

последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:286.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта второй полипептид Fc дополнительно содержит мутации L234A и L235A с мутацией P329G или без нее, и/или мутации M428L и N434S в соответствии со схемой нумерации EU. В конкретных вариантах осуществления (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а (b) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:210 и 282-285. В конкретных вариантах осуществления (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а (b) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:209 и 287-290. В конкретных вариантах осуществления (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:291.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта первый полипептид Fc дополнительно содержит мутации L234A и L235A с мутацией P329G или без нее, и/или мутации M428L и N434S в соответствии со схемой нумерации EU. В конкретных вариантах осуществления (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:215-224 и 227-236, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:281. В конкретных вариантах осуществления (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:215-224 и 227-236, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:286.

В некоторых вариантах осуществления данного аспекта каждый из первого и второго полипептидов Fc дополнительно содержит мутации L234A и L235A с мутацией P329G или без нее, и/или мутации M428L и N434S в соответствии со схемой нумерации EU. В конкретных вариантах осуществления (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:215-224 и 227-236, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:210 и 282-285. В конкретных вариантах осуществления (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:215-224 и 227-236, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:209 и 287-290. В конкретных вариантах осуществления (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:215-224 и 227-236, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:291.

В конкретных вариантах осуществления (a) содержит последовательность SEQ ID NO:215, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:210. В конкретных вариантах осуществления (a) содержит последовательность SEQ ID NO:227, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:210. В конкретных вариантах осуществления (a) содержит последовательность SEQ ID NO:215, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:291. В конкретных вариантах осуществления (a) содержит последовательность SEQ ID NO:227, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:291.

В другом аспекте в данном документе предложен полипептид, содержащий полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина или его вариантом, причем полипептид Fc содержит одну или более модификаций, которые способствуют его гетеродимеризации с другим полипептидом Fc.

В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина содержит аминокислотную последовательность, имеющую более 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:212. В определенных вариантах осуществления полипептид програнулина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:212.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc связан с полипептидом програнулина или его вариантом пептидной связью или полипептидным линкером. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер имеет длину от 1 до 50, от 1 до 25, от 1 до 20 или от 1 до 10 аминокислот. Например, полипептидный линкер может иметь длину от 3 до 50, от 3 до 25, от 5 до 50, от 5 до 25, от 5 до 20 или от 10 до 25 аминокислот. В определенных вариантах осуществления полипептидный линкер представляет собой гибкий полипептидный линкер. Гибкий полипептидный линкер может представлять собой линкер, богатый глицином, (*например*, G₄S (SEQ ID NO:277) или (G₄S)₂ (SEQ ID NO:276)).

В некоторых вариантах осуществления N-конец или C-конец полипептида Fc связан с полипептидом програнулина.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc содержит замену T366W.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:237, 238, 249 и 250.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc содержит модификацию, которая снижает эффекторную функцию. В определенных вариантах осуществления модификация, которая снижает эффекторную функцию, представляет собой замены Ala в положении 234 и Ala в положении 235 в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:215, 216, 227, 228, 239, 240, 251 и 252.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc содержит аминокислотные

изменения относительно нативной последовательности Fc, которые увеличивают период полужизни полипептида Fc в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления аминокислотные изменения включают замены Leu в положении 428 и Ser в положении 434 в соответствии с нумерацией EU.

В некоторых вариантах осуществления полипептид содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:219-222, 231-234, 243-246 и 255-258.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc дополнительно содержит TfR-связывающие мутации.

В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина или его вариант связывается с сортилином или просапозинном. В конкретных вариантах осуществления полипептид програнулина или его вариант связывается с сортилином.

В другом аспекте в данном документе предложен способ лечения програнулин-ассоциированного расстройства, включающий введение белка или полипептида, раскрытого в данном документе, нуждающемуся в этом пациенту, причем програнулин-ассоциированное расстройство выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративного заболевания, атеросклероза, заболевания, связанного с TDP-43, и возрастной макулярной дегенерации (ВМД).

В другом аспекте в данном документе предложен способ увеличения количества полипептида програнулина или его варианта у пациента, страдающего програнулин-ассоциированным расстройством, включающий введение пациенту белка или полипептида, раскрытого в данном документе, причем програнулин-ассоциированное расстройство, выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративного заболевания, атеросклероза, заболевания, связанного с TDP-43, и возрастной макулярной дегенерации (ВМД).

В другом аспекте в данном документе предложен способ снижения активности катепсина D у пациента, страдающего програнулин-ассоциированным расстройством, включающий введение пациенту белка или полипептида, раскрытого в данном документе, причем програнулин-ассоциированное расстройство выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративного заболевания, атеросклероза, заболевания, связанного с TDP-43, и возрастной макулярной дегенерации (ВМД).

В другом аспекте в данном документе предложен способ повышения лизосомальной деградации у пациента, страдающего програнулин-ассоциированным расстройством, включающий введение пациенту белка или полипептида, раскрытого в данном документе, причем програнулин-ассоциированное расстройство выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративного заболевания, атеросклероза, заболевания,

связанного с TDP-43, и возрастной макулярной дегенерации (ВМД).

В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, програнулин-ассоциированное расстройство представляет собой нейродегенеративное заболевание. В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, нейродегенеративное заболевание выбрано из группы, состоящей из лобно-височной деменции (ЛВД), нейронального цероидного липофусциноза (НЦЛ), болезни Ниманна — Пика типа А (НПА), болезни Ниманна — Пика типа В (НПВ), болезни Ниманна — Пика типа С (НПС), C9ORF72-ассоциированного бокового амиотрофического склероза (БАС)/ЛВД, спорадического БАС, болезни Альцгеймера (БА), болезни Гоше (*например*, болезни Гоше типов 2 и 3) и болезни Паркинсона. В некоторых вариантах осуществления нейродегенеративное заболевание представляет собой лобно-височную деменцию (ЛВД).

В некоторых вариантах осуществления у пациента имеется мутация в гене, кодирующем полипептид програнулина.

В другом аспекте в данном документе предложена фармацевтическая композиция, содержащая любой из белков, описанных в данном документе, или любой из пептидов, описанных в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом аспекте предложен способ оценки соединения или мониторинга ответа субъекта на соединение, фармацевтическую композицию или схему его дозирования (*например*, ответ на слитый белок димер Fc:PGRN, описанный в настоящем документе) для лечения програнулин-ассоциированного расстройства, способ, включающий: (а) измерение численности одного или более видов бис(моноацилглицеро)фосфата (ВМР) в тестируемом образце от субъекта, имеющего програнулин-ассоциированное расстройство, причем тестируемый образец обрабатывали или субъект лечили соединением или его фармацевтической композицией (*например*, лечили слитым белком димер Fc:PGRN, описанным в данном документе); (b) сравнение разницы в численности между одним или более видами ВМР, измеренными в (а), и одним или более эталонными значениями; и (с) определение из сравнения, улучшает ли соединение, фармацевтическая композиция или схема их дозирования (*например*, слитый белок димер Fc:PGRN, описанный в данном документе) один или более уровней видов ВМР для лечения програнулин-ассоциированного расстройства.

В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в данном документе, дополнительно включают обработку другого тестируемого образца или лечение субъекта другим соединением и выбор соединения-кандидата, которое улучшает уровень одного или более видов ВМР.

В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в данном документе, дополнительно включают (d) поддержание или корректировку количества или частоты введения соединения (*например*, слитого белка димер Fc:PGRN, описанного в данном документе) в тестируемый образец или субъекту; и (e) введение соединения в тестируемый образец или субъекту.

В другом аспекте предложен способ идентификации субъекта, имеющего или подверженного риску развития програнулин-ассоциированного расстройства, включающий: (a) измерение численности одного или более видов ВМР в тестируемом образце от субъекта; (b) сравнение разницы в численности между одним или более видами ВМР, измеренными в (a), и одним или более эталонными значениями; и (c) определение из сравнения, имеется ли у субъекта програнулин-ассоциированное расстройство.

В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, дополнительно включают введение субъекту соединения (*например*, слитого белка Fc-димер:PGRN, описанного в данном документе) для повышения уровня одного или более видов ВМР для лечения програнулин-ассоциированного расстройства. В некоторых вариантах осуществления улучшается состояние в отношении по меньшей мере одного из одного или более признаков или симптомов програнулин-ассоциированного расстройства.

В некоторых вариантах осуществления лечение включает введение субъекту програнулина, его производного или его фармацевтической композиции (*например*, введение слитого белка Fc-димер:PGRN, описанного в данном документе). В некоторых вариантах осуществления производное програнулина содержит химический компонент или пептидный фрагмент, который позволяет програнулину преодолеть гематоэнцефалический барьер (*например*, производное програнулина, такое как слитый белок димер Fc:PGRN, описанный в данном документе). В некоторых вариантах осуществления лечение включает введение библиотеки соединений множеству субъектов или тестируемых образцов.

В некоторых вариантах осуществления эталонное значение измеряют в эталонном образце, полученном от эталонного субъекта или группы эталонных субъектов. В некоторых вариантах осуществления эталонное значение представляет собой численность одного или более видов ВМР, измеренное в эталонном образце. В некоторых вариантах осуществления эталонный образец представляет собой тот же тип клеток, ткани или жидкости, что и тестируемый образец. В некоторых вариантах осуществления измеряют по меньшей мере два эталонных значения для разных типов клеток, тканей или жидкости.

В некоторых вариантах осуществления эталонный образец представляет собой

здоровый контроль. В некоторых вариантах осуществления контрольный субъект или популяция контрольных субъектов не имеют програнулин-ассоциированного расстройства или пониженного уровня програнулина. В конкретных вариантах осуществления контрольный субъект или популяция контрольных субъектов не имеют каких-либо признаков или симптомов такого расстройства.

В некоторых вариантах осуществления уровни видов ВМР повышены в макрофагах из костного мозга, которые получены *in vitro* из клеток костного мозга субъекта, имеющего или подверженного риску развития програнулин-ассоциированного расстройства, по сравнению со здоровым контролем или контролем, не связанным с програнулин-ассоциированным расстройством.

В некоторых вариантах осуществления уровни видов ВМР снижены в печени, головном мозге, спинномозговой жидкости, плазме или моче у субъекта, имеющего или подверженного риску развития програнулин-ассоциированного расстройства, по сравнению со здоровым контролем или контролем, не связанным с програнулин-ассоциированным расстройством.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, численность видов ВМР в тестируемом образце субъекта, имеющего или подверженного риску развития програнулин-ассоциированного расстройства, имеет по меньшей мере примерно 1,2-кратное, 1,5-кратное или 2-кратное различие по сравнению с эталонным значением контроля, такого как здоровый контроль, или контроль, не связанный с програнулин-ассоциированным расстройством. В других вариантах осуществления изобретения, численность видов ВМР в тестируемом образце субъекта, имеющего или подверженного риску развития програнулин-ассоциированного расстройства, имеет по меньшей мере от примерно 1,2-кратного до примерно 4-кратного различия по сравнению с эталонным значением контроля, такого как здоровый контроль, или контроль, не связанный с програнулин-ассоциированным расстройством. В некоторых вариантах осуществления разница по сравнению с эталонным значением составляет от примерно 2 до примерно 3 раз. В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется расстройство, связанное с пониженным уровнем програнулина, и/или один или более признаков или симптомов расстройства, связанного со пониженным уровнем програнулина.

В некоторых вариантах осуществления эталонное значение представляет собой значение вида ВМР до лечения. В некоторых вариантах осуществления субъект проходит лечение от пониженного уровня програнулина или програнулин-ассоциированного расстройства, и тестируемый образец включает один или более тестируемых образцов, взятых до лечения, которые получены от субъекта до начала лечения и один или более

тестируемых образцов, взятых после начала лечения, которые получены от субъекта после начала лечения. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает определение того, что субъект отвечает на лечение, когда численность по меньшей мере одного из одного или более видов BMP после лечения показывает улучшение по сравнению с одним или более видами BMP до лечения относительно здорового контроля.

В некоторых вариантах осуществления способы включают (a) измерение содержания одного или более видов бис(моноацилглицеро)фосфата (BMP) в тестируемом образце, полученном от субъекта; (b) обработка тестируемого образца или лечение субъекта соединением, фармацевтической композицией или схемой их дозирования (*например*, обработка тестируемого образца или лечение субъекта слитым белком димер Fc:PGRN, описанным в данном документе); (c) измерение количества одного или более видов BMP в тестируемом образце, полученном от подвергнутого лечению субъекта, и (d) сравнение количества одного или более видов BMP, измеренных на стадиях (a) и (c); и (e) определение того, улучшает ли соединение или схема дозирования уровни BMP для лечения програнулин-ассоциированного расстройства.

В некоторых вариантах осуществления два или более тестируемых образца, взятых после лечения, получают в разные моменты времени после начала лечения, и способ дополнительно включает определение того, что субъект отвечает на лечение, когда численность по меньшей мере одного из одного или более видов BMP, измеренное в образце, взятом после лечения, а) ниже в макрофагах из костного мозга (BMDM), или b) выше в печени, головном мозге, спинномозговой жидкости, плазме или моче, чем численность соответствующих одного или более видов BMP, измеренного в образце перед лечением. В некоторых вариантах осуществления субъект определяется как отвечающий на лечение, когда численность по меньшей мере одного из одного или более видов BMP, измеренное в образце, взятом после лечения, составляет а) по меньшей мере примерно в 1,2 раза ниже в BMDM или b) по меньшей мере примерно в 1,2 раза выше в печени, головном мозге, спинномозговой жидкости, плазме или моче, чем численность соответствующего одного или более видов BMP, измеренное в образце, взятом до лечения.

В некоторых вариантах осуществления улучшенный уровень видов BMP представляет собой улучшение по сравнению с уровнем видов BMP до лечения относительно эталонного значения контроля, такого как здоровый контроль, или контроль, не связанный с програнулин-ассоциированным расстройством. В некоторых вариантах осуществления улучшенный уровень видов BMP ближе по значению к контролю, чем уровень видов BMP до лечения к контролю. В некоторых вариантах

осуществления улучшенный уровень видов ВМР имеет различие по сравнению с контролем менее 15%, 10% или 5%. В некоторых вариантах осуществления улучшенный уровень видов ВМР имеет различие по сравнению со здоровым контролем менее 10% или 5%. В некоторых вариантах осуществления улучшенный уровень видов ВМР имеет различие по сравнению со здоровым контролем менее 5%.

В некоторых вариантах осуществления, способ дополнительно включает определение того, что субъект отвечает на лечение, когда численность по меньшей мере одного из одного или более видов ВМР, измеренное по меньшей мере в одном из одного или более тестируемых образцов, взятых после лечения, составляет примерно такое же численность, как соответствующее эталонное значение здорового контроля.

В некоторых вариантах осуществления тестируемый или эталонный образец или одно или более эталонных значений включают или относятся к клетке, ткани, цельной крови, плазме, сыворотке, спинномозговой жидкости, интерстициальной жидкости, мокроте, моче, фекалиям, жидкости бронхоальвеолярного лаважа, лимфе, семенной жидкости, грудному молоку, амниотической жидкости или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой моноклеарную клетку периферической крови (МКПК), макрофаг из костного мозга (BMDM), клетку пигментного эпителия сетчатки (RPE), клетку крови, эритроцит, лейкоцит, нейрональную клетку, клетку микроглии, клетку головного мозга, клетку коры головного мозга, клетку спинного мозга, клетку костного мозга, клетку печени, клетку почек, клетку селезенки, клетку легкого, клетку глаза, клетку ворсинок хориона, мышечную клетку, клетку кожи, фибробласт, клетку сердца, клетку лимфатического узла или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой культивируемую клетку. В некоторых вариантах осуществления культивируемая клетка представляет собой клетку BMDM или RPE.

В некоторых вариантах осуществления ткань включает ткань головного мозга, ткань коры головного мозга, ткань спинного мозга, ткань печени, ткань почек, мышечную ткань, ткань сердца, ткань глаза, ткань сетчатки глаза, ткань лимфатического узла, костного мозга, ткань кожи, ткань кровеносного сосуда, ткань легкого, ткань селезенки, ткань клапана или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления тестируемый и/или эталонный образец очищен от клетки и/или ткани и включает эндосому, лизосому, внеклеточную везикулу, экзосому, микровезикулу или их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления один или более видов ВМР включают два или более видов ВМР. В некоторых вариантах осуществления один или более видов ВМР включают ВМР(16:0_18:1), ВМР(16:0_18:2), ВМР(18:0_18:0), ВМР(18:0_18:1),

BMP(18:1_18:1), BMP(16:0_20:3), BMP(18:1_20:2), BMP(18:0_20:4), BMP(16:0_22:5), BMP(20:4_20:4), BMP(22:6_22:6), BMP(20:4_20:5), BMP(18:2_18:2), BMP(16:0_20:4), BMP(18:0_18:2), BMP(18:0e_22:6), BMP(18:1e_20:4), BMP(18:3_22:5), BMP(20:4_22:6), BMP(18:0e_20:4), BMP(18:2_20:4), BMP(18:1_22:6), BMP(18:1_20:4), BMP(18:0_22:6) или их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления один или более видов BMP включают BMP(18:1_18:1), BMP(18:0_20:4), BMP(20:4_20:4), BMP(22:6_22:6), BMP(20:4_22:6), BMP(18:1_22:6), BMP(18:1_20:4), BMP(18:0_22:6), BMP(18:3_22:5) или их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец содержит культивируемую клетку, а один или более видов BMP включают BMP(18:1_18:1). В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец включает плазму, ткань, мочу, спинномозговую жидкость (СМЖ) и/или ткань головного мозга или печени, а один или более видов BMP включают BMP(22:6_22:6). В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец включает ткань печени, а один или более видов BMP включают BMP(22:6_22:6), BMP(18:3_22:5) или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец содержит CSF или мочу, а один или более видов BMP включают BMP(22:6_22:6). В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец содержит микроглию, а один или более видов BMP включают BMP(18:3_22:5).

В некоторых вариантах осуществления численность одного или более видов BMP измеряют с использованием способа, выбранного из группы, состоящей из жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (ЖХ-МС), жидкостной хроматографии-тандемной масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС), газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС), газовой хроматографии-тандемной масс-спектрометрии (ГХ-МС/МС), иммуноферментного анализа (ИФА) и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления внутренний стандарт BMP используют для измерения количества одного или более видов BMP на стадии (а) и/или определения соответствующего эталонного значения. В некоторых вариантах осуществления внутренний стандарт BMP включает виды BMP, которые естественным образом не присутствуют у субъекта и/или у контрольного субъекта или популяции контрольных субъектов. В некоторых вариантах осуществления внутренний стандарт BMP включает BMP(14:0_14:0).

В некоторых вариантах осуществления програнулин-ассоциированное расстройство представляет собой расстройство, связанное с экспрессией, процессингом, гликозилированием, клеточным поглощением, направленной миграцией и/или функцией програнулина. В некоторых вариантах осуществления субъект и/или контрольный субъект или популяция контрольных субъектов имеют пониженный уровень

програнулина и/или расстройство, связанное с пониженным уровнем програнулина, а тестируемый образец приводили в контакт с соединением-кандидатом (*например*, слитым белком димер Fc:PGRN, описанным в данном документе). В некоторых вариантах осуществления субъект и/или контрольный субъект или популяция контрольных субъектов имеют один или более признаков или симптомов расстройства, связанного с пониженным уровнем програнулина. В некоторых вариантах осуществления субъект и/или контрольный субъект или популяция контрольных субъектов имеют мутацию в гене гранулина (*GRN*). В некоторых вариантах осуществления мутация в гене *GRN* снижает экспрессию и/или активность програнулина. В некоторых вариантах осуществления програнулин-ассоциированное расстройство представляет собой атеросклероз, болезнь Гоше или возрастную макулярную дегенерацию (ВМД). В некоторых вариантах осуществления програнулин-ассоциированное расстройство представляет собой болезнь Гоше 1-го типа. В некоторых вариантах осуществления програнулин-ассоциированное расстройство представляет собой расстройство, ассоциированное с TDP-43. В других вариантах осуществления расстройство, ассоциированное с TDP-43, представляет собой БА или БАС.

В некоторых вариантах осуществления субъектом и/или контрольным субъектом является человек, отличный от человека примат, грызун, собака или свинья.

В другом аспекте данного раскрытия предложен набор для мониторинга уровней програнулина у субъекта. В некоторых вариантах осуществления набор включает стандарт бис(моноацилглицеро)фосфата (ВМР) для измерения количества одного или более видов ВМР в тестируемом образце, полученном от субъекта, и/или в эталонном образце, полученном от контрольного субъекта или популяции контрольных субъектов. В некоторых вариантах осуществления стандарт ВМР включает виды ВМР, которые естественным образом не присутствуют у субъекта и/или у контрольного субъекта. В некоторых вариантах осуществления стандарт ВМР включает ВМР(14:0_14:0).

В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно включает реагенты для получения образца от субъекта и/или контрольного субъекта, обработки образца, измерения количества одного или более видов ВМР или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит инструкции по применению.

В другом аспекте данного раскрытия предложено отличное от человека трансгенное животное, содержащее (а) нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный полипептид TfR, содержащий: (i) апикальный домен, имеющий по меньшей мере 90% идентичности с SEQ ID NO:296 и (ii) сайт связывания трансферрина нативного полипептида TfR животного, и (b) нокаут гена *GRN*, и причем химерный полипептид TfR

экспрессируется в головном мозге животного.

В некоторых вариантах осуществления апикальный домен содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:296. В некоторых вариантах осуществления апикальный домен содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:297, SEQ ID NO:298 или SEQ ID NO:299.

В некоторых вариантах осуществления химерный полипептид TfR содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:300.

В некоторых вариантах осуществления животное экспрессирует уровень химерного полипептида TfR в ткани головного мозга, печени, почки или легкого в пределах 20% (*например*, 18%, 16%, 14%, 12%, 10%, 8%, 6% или 4%) уровня экспрессии TfR в той же ткани соответствующего животного дикого типа того же вида.

В некоторых вариантах осуществления у животного количество эритроцитов, уровень гемоглобина или уровень гематокрита находятся в пределах 20% (*например*, 18%, 16%, 14%, 12%, 10%, 8%, 6% или 4%) от количества эритроцитов, уровня гемоглобина или уровня гематокрита у соответствующего животного дикого типа того же вида.

В некоторых вариантах осуществления последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая апикальный домен, содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 95% (*например*, 97%, 98% или 99%) идентичности с SEQ ID NO:301.

В некоторых вариантах осуществления животное является гомозиготным или гетерозиготным по нуклеиновой кислоте, кодирующей химерный полипептид TfR.

В некоторых вариантах осуществления нокаут гена *GRN* содержит делецию экзонов 1-4 гена *GRN*.

В некоторых вариантах осуществления животное представляет собой мышь или крысу.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок, содержащий: (a) модифицированный димер полипептида Fc, который специфически связывает TfR; и (b) полипептид програнулина. В некоторых вариантах осуществления белок дополнительно содержит: (c) полипептидный линкер, причем полипептидный линкер связывает модифицированный димер полипептида Fc с полипептидом програнулина.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc специфически связывается с апикальным доменом TfR.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc содержит по меньшей мере две замены в положениях, выбранных из группы, состоящей

из 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, в соответствии с нумерацией EU, одного полипептида Fc. В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc содержит замены по меньшей мере в трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или девяти положениях одного полипептида Fc. В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc дополнительно содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих 380, 391, 392 и 415, в соответствии с нумерацией EU, одного полипептида Fc. В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc дополнительно содержит одну, две или три замены в положениях, включающих 414, 424 и 426, в соответствии с нумерацией EU, одного полипептида Fc.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc содержит Trp в положении 388 одного полипептида Fc. В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc содержит по меньшей мере одно положение, выбранное из следующего: положение 380 представляет собой Trp, Leu или Glu; положение 384 - Tyr или Phe; положение 386 - Thr; положение 387 - Glu; положение 388 представляет собой Trp; положение 389 представляет собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390 представляет собой Ser или Asn; положение 413 представляет собой Thr или Ser; положение 415 представляет собой Glu или Ser; положение 416 представляет собой Glu; и положение 421 представляет собой Phe одного полипептида Fc.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc содержит 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 11 положений, выбранных из следующего: положение 380 представляет собой Trp, Leu или Glu; положение 384 представляет собой Tyr или Phe; положение 386 представляет собой Thr; положение 387 представляет собой Glu; положение 388 представляет собой Trp; положение 389 представляет собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390 представляет собой Ser или Asn; положение 413 представляет собой Thr или Ser; положение 415 представляет собой Glu или Ser; положение 416 представляет собой Glu; а положение 421 представляет собой Phe одного полипептида Fc.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc содержит домен CH3 первого полипептида Fc с по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO:34-38, 58, 60-90, 136 и 137-210. В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:136-210. В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:136, 138, 150, 162, 174, 186 и 198.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc содержит полипептид Fc, имеющий идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 75% или по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92% или 95% по сравнению с соответствующим полипептидом Fc дикого типа.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный димер полипептида Fc не включает последовательность вариабельной области тяжелой и/или легкой цепи иммуноглобулина или ее антигенсвязывающую часть.

В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида Fc в модифицированном димере полипептида Fc связан с N-концом полипептида програнулина. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер связывает С-конец полипептида Fc в модифицированном димере полипептида Fc с N-концом полипептида програнулина.

В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом полипептида Fc в модифицированном димере полипептида Fc. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер связывает С-конец полипептида програнулина с N-концом полипептида Fc в модифицированном димере полипептида Fc.

В некоторых вариантах осуществления любой из белков, описанных в данном документе, можно использовать в терапии.

В некоторых вариантах осуществления любой из белков, описанных в данном документе, можно использовать при лечении нейродегенеративного заболевания.

В некоторых вариантах осуществления любой из описанных в данном документе белков можно использовать при лечении нейродегенеративного заболевания, выбранного из группы, состоящей из болезни Альцгеймера, первичной возрастной таупатии, деменции с тельцами Леви, прогрессирующего надъядерного паралича (ПНП), лобно-височной деменции, лобно-височной деменции с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17, деменции с аргирофильным зерном, бокового амиотрофического склероза, бокового амиотрофического склероза/комплекса паркинсонизм-деменция Гуама (БАС-КПД), кортикобазальной дегенерации, хронической травматической энцефалопатии, болезни Крейтцфельда — Якоба, деменции боксеров, диффузных нейрофибриллярных клубков с кальцификацией, синдрома Дауна, семейной деменции британского типа, семейной деменции датского типа, болезни Герстмана — Штраусслера — Шейнкера, глобулярной глиальной таупатии, паркинсонизма гваделупского типа с деменцией, ПНП гваделупского типа, болезни Галлервордена — Шпатца, наследственной диффузной лейкоэнцефалопатии со сфероидом (НДЛС), миозита с тельцами включения, множественной системной атрофии, миотонической дистрофии, болезни Насу — Хакола, деменции с преобладанием

нейрофибриллярных клубков, болезни Ниманна — Пика типа С, паллидо-понтонигральной дегенерации, болезни Паркинсона, болезни Пика, постэнцефалитного паркинсонизма, церебральной амилоидной ангиопатии, вызванной прионным белком, прогрессирующего субкортикального глиоза, подострого склерозирующего панэнцефалита и деменции, характеризующейся только клубками.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:213 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:273.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:214 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:273.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:225 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:273.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер, причем второй полипептид Fc образует димер Fc с первым полипептидом Fc, и причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:213 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:274.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер, причем второй полипептид Fc образует димер Fc с первым полипептидом Fc, и

причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:213 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:275.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер, причем второй полипептид Fc образует димер Fc с первым полипептидом Fc, и причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:225 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:275.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:213 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:261.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:225 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:261.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:215 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:110.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:227 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:110.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc,

который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:215 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:273.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:227 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:273.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:215 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:282.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:227 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:282.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:215 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:284.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:227 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:284.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при

лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:215 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:285.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:227 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:285.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:215 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:210.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:227 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:210.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:215 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:291.

В другом аспекте настоящего раскрытия предложен белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий (a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и (b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:227 и (b) содержит последовательность SEQ ID NO:291.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1А показано схематическое изображение трех слитых белков димер Fc:PGRN Слияния 1, Слияния 2 и Слияния 3. В Слиянии 1 и Слиянии 2 N-конец PGRN слит с C-концом полипептида Fc, который не содержит TfR-связывающие мутации (обозначено звездочкой) посредством линкера $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO:276) и линкера G_4S (SEQ ID NO:277), соответственно. В Слиянии 3 C-конец PGRN слит с N-концом полипептида Fc, который не содержит TfR-связывающие мутации (обозначено звездочкой), посредством линкера $(G_4S)_2$.

На фиг. 1В показаны гели ДСН-ПААГ, демонстрирующие, что слитые белки Слияния 1, Слияния 2 и Слияния 3, каждый из которых содержит одну молекулу PGRN, были очищены до чистоты более 85%.

На фиг. 1С представлено схематическое изображение, показывающее слитые белки димер Fc:PGRN Слияния 4, Слияния 5 и Слияния 6. В Слиянии 4 каждая из двух молекул PGRN слита с C-концом полипептида Fc посредством линкера $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO:276). Одна молекула PGRN слита с C-концом полипептида Fc, содержащего TfR-связывающие мутации (обозначено звездочкой), в то время как другая молекула PGRN слита с C-концом полипептида Fc без TfR-связывающих мутаций. В Слиянии 5 одна молекула PGRN слита с N-концом полипептида Fc, содержащего TfR-связывающие мутации (обозначены звездочкой), посредством линкера $(G_4S)_2$, в то время как другая молекула PGRN слита с C-концом другого полипептида Fc без TfR-связывающих мутаций. В Слиянии 6 каждая из двух молекул PGRN слита с N-концом полипептида Fc посредством линкера $(G_4S)_2$. Одна молекула PGRN слита с N-концом полипептида Fc, содержащего TfR-связывающие мутации (обозначено звездочкой), в то время как другая молекула PGRN слита с N-концом полипептида Fc без TfR-связывающих мутаций.

На фиг. 1D показано, что слитые белки димер Fc:PGRN Слияния 4 и Слияния 5, каждый из которых содержит две молекулы PGRN, были очищены до чистоты более 85%.

На фиг. 1Е представлено схематическое изображение, показывающее слитые белки димер Fc:PGRN Слияния 7 и Слияния 8. Оба слитых белка Слияния 7 и Слияния 8 содержат полипептиды Fc, которые не содержат TfR-связывающие мутации. В Слиянии 7 N-конец PGRN слит с C-концом полипептида Fc посредством линкера $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO:276). В Слиянии 8 C-конец PGRN слит с N-концом полипептида Fc посредством линкера $(G_4S)_2$.

На фиг. 2А и 2В показано эффективное клеточное поглощение рекомбинантного PGRN и слитых белков димер Fc:PGRN (Слияние 1, Слияние 2 и Слияние 3), на что указывают как окрашивание PGRN (фиг. 2А), так и окрашивание Fc (фиг. 2В).

На фиг. 3 показано, что слитые белки димер Fc:PGRN (Слияние 1, Слияние 2 и Слияние 3) были способны устранять протеолитические дефициты в BMDM *GRN* KO.

На фиг. 4 показана зависимость доза-ответ слитых белков димер Fc:PGRN (Слияние 1, Слияние 3, Слияние 4 и Слияние 5) в анализе эндолизосомного протеолиза с использованием конъюгата Bodipy-BSA (DQ-BSA).

На фиг. 5 показано, что слитые белки димер Fc:PGRN (Слияние 1, Слияние 2 и Слияние 3) были способны устранять повышенную активность катепсина D, наблюдаемую в BMDM *B GRN* KO.

На фиг. 6A-6D показано, что слитый белок димер Fc:PGRN Слияния 1 был способен устранять повышенные уровни мРНК лизосомных генов *Ctsl*, *Tmem106b* и *Psap* в BMDM *GRN* KO.

На фиг. 7A и 7B показано, что слитые белки Fc-димер:PGRN Слияния 1 и Слияния 3 продемонстрировали аналогичные фармакокинетические профили в образцах плазмы и печени мышей дикого типа, которым вводили дозу этих слитых белков.

На фиг. 8A и 8B показаны графики рассеяния со средним значением и СОС, указанными для концентраций слитых белков димер Fc:PGRN Слияния 1 и Слияния 3 в нМ, которые были измерены в лизатах головного мозга и лизатах печени, соответственно, мышей дикого типа и hTfR через 4 часа после введения дозы. Данные были получены с использованием биотинилированного козьего поликлонального человеческого детекторного антитела для обнаружения програнулина человека (R&D Systems #BAF2420).

На фиг. 9A показан график рассеяния со средним значением и СОС, указанными для соотношений головной мозг:плазма слитых белков димер Fc:PGRN Слияния 1 и Слияния 3, нормированных к Слиянию 3 в диких типах.

На фиг. 9B показан график рассеяния со средним значением и СОС, указанными для соотношений головной мозг:печень слитых белков димер Fc:PGRN Слияния 1 и Слияния 3, нормированных к Слиянию 3 в диких типах.

На фиг. 10A и 10B показан график рассеяния со средним значением и СОС, указанными для концентраций слитых белков димер Fc:PGRN Слияния 1 и Слияния 3 в нМ, которые были измерены в лизатах головного мозга и лизатах печени, соответственно, мышей дикого типа и hTfR через 4 часа после введения дозы. Данные были получены с использованием детекторного антитела, нацеленного на сайт в Fc.

На фиг. 11A и 11B показан график рассеяния со средним значением и СОС, указанными для концентраций слитых белков димер Fc:PGRN Слияния 1 и Слияния 3 в нг/мг общего белка, которые были измерены в лизатах головного мозга и лизатах печени,

соответственно, мышей дикого типа и hTfR через 4 часа после введения дозы. Данные были получены с использованием детекторного антитела, нацеленного на сайт в Fc.

На фиг. 12A и 12B показаны полулогарифмические графики зависимости средних концентраций в плазме от времени в нМ слитых белков димер Fc:PGRN Слияния 1 и Слияния 3, соответственно, у мышей hTfR и дикого типа.

На фиг. 12C и 12D показаны графики рассеяния со средним значением и СОС, указанными для концентраций в плазме в нМ слитых белков димер Fc:PGRN Слияния 1 и Слияния 3 через 0,25 часа и 4 часа после введения дозы, соответственно.

На фиг. 13A и 13B показаны повышенные уровни видов бис(моноацилглицеро) фосфата (BMP) в макрофагах из костного мозга (BMDM) мышей с нокаутом *GRN* по сравнению с мышами дикого типа. На фиг. 13A показано, что обработка BMDM мышей с нокаутом *GRN* слитыми белками димер Fc:PGRN Слияния 11 и Слияния 12, показанные в таблице 1 примера 1, понижала повышенные уровни BMP(18:1_18:1). На фиг. 13B показано, что обработка BMDM мышей с нокаутом *GRN* слитыми белками димер Fc:PGRN Слияния 11 и Слияния 12 понизила повышенные уровни BMP (20:4_20:4).

На фиг. 13C и 13D показано, что обработка BMDM мышей с нокаутом *GRN* рекомбинантным програнулином (адипогеном) или програнулином, экспрессируемым лентивирусом, понизила повышенные уровни BMP (общий BMP, а также 18:1_18:1).

На фиг. 14A показано снижение BMP 44:12 в периферической печени, плазме и моче мышей с нокаутом *GRN* по сравнению с мышами дикого типа.

На фиг. 14B показано снижение BMP 44:12 в спинномозговой жидкости (СМЖ) и головном мозге центральной нервной системы (ЦНС) по сравнению с диким типом.

На фиг. 15 показано, что мыши с нокаутом *GRN* в возрасте от 2 до 19 месяцев демонстрировали независимое от возраста снижение BMP в плазме 44:12 по сравнению с мышами дикого типа.

На фиг. 16A и 16B показано, что обработка мышей с нокаутом *GRN* слитыми белками димер Fc:PGRN Слияния 11 и Слияния 12 повышала уровни BMP 44:12 и 20:4_20:4 в печени.

На фиг. 17 показано, что обработка мышей с нокаутом *GRN* слитыми белками димер Fc:PGRN Слияния 11 и Слияния 12 повышала уровни BMP 44:12 в плазме.

На фиг. 18 показано, что обработка мышей с нокаутом *GRN* слитыми белками димер Fc:PGRN Слияния 11 и Слияния 12 повышала уровни BMP 44:12 в моче (нормированные к креатину).

На фиг. 19 показано, что обработка мышей с нокаутом *GRN* слитыми белками димер Fc:PGRN Слияния 11 и Слияния 12 повышала уровни BMP 44:12 в CSF.

На фиг. 20А и 20В показано, что обработка мышей с нокаутом *GRN* слитыми белками димер Fc:PGRN Слияния 11 и Слияния 12 повышала уровни BMP 44:12 и 20:4_20:4 в головном мозге, соответственно.

На фиг. 21А-21С показано, что Слияние 11 и Слияние 12 были способны проникать через ГЭБ в головном мозге мышей KO/hTfR.KI *GRN*.

Подробное описание сущности изобретение

I. ВВЕДЕНИЕ

Мы разработали слитые белки, которые включают полипептид програнулина или его вариант, связанный с полипептидом Fc. Данные белки можно использовать для лечения програнулин-ассоциированных расстройств (*например*, нейродегенеративного заболевания, такого как лобно-височная деменция (ЛВД)). В некоторых случаях белок включает димерный полипептид Fc, где один из мономеров полипептида Fc связан с полипептидом програнулина. Полипептиды Fc могут повышать уровни програнулина и, в некоторых случаях, могут быть модифицированы для придания белку дополнительных функциональных свойств.

Програнулин (PGRN) (также известный как проэпителин и акрогранин) представляет собой богатый цистеином белок, кодируемый геном *GRN*, который отображается на хромосоме 17q21 человека. Програнулин представляет собой лизосомный белок, а также секретируемый белок, состоящий из семи с половиной tandemных повторов консервативных пептидов гранулина, каждый из которых имеет длину около 60 аминокислот и может высвобождаться посредством расщепления различными внеклеточными протеазами (*например*, эластазой) и лизосомными протеазами (*например*, катепсином L) (Kao et al., *Nat Rev Neurosci.* 18(6):325-333, 2017). Как правило, считается, что програнулин играет для клеток как клеточно-автономные, так и не автономные роли в контроле врожденного иммунитета, а также функции лизосом, где он регулирует активность и уровни различных катепсинов и других гидролаз (Kao et al., *выше*). Програнулин также выполняет нейротрофическую функцию и способствует разрастанию нейритов и выживанию нейронов (Kao et al., *выше*).

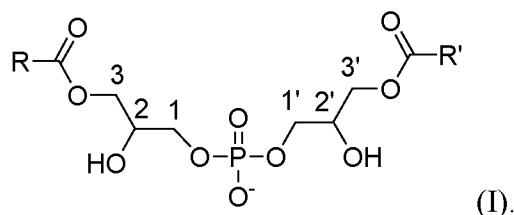
В данном документе также описаны слитые белки, которые облегчают доставку полипептида програнулина через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Данные белки содержат полипептид Fc и модифицированный полипептид Fc, которые образуют димер, и полипептид програнулина, связанный с областью Fc и/или модифицированной областью Fc. Модифицированная область Fc может специфически связываться с рецептором ГЭБ, таким как рецептор трансферрина (TfR).

II. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Употребляемые в данном документе формы единственного числа включают ссылки на формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное. Таким образом, например, ссылка на «полипептид» может включать две или более таких молекул и т.п.

В контексте данного документа термины «около» и «приблизительно» при использовании для изменения количества, указанного в числовом значении или диапазоне, указывают на то, что числовое значение, а также разумные отклонения от значения, известного специалисту в данной области техники, например $\pm 20\%$, $\pm 10\%$ или $\pm 5\%$, находятся в предполагаемом пределе приведенного значения.

В контексте данного документа термин «ВМР» означает бис(моноацилглицеро)фосфат. ВМР представляет собой отрицательно заряженный глицерофосфолипид (*например*, при pH, обычно присутствующем в поздних эндосомах и лизосомах), имеющий структуру, изображенную в формуле I:



Молекулы ВМР содержат две боковые цепи жирных кислот. R и R' в формуле I представляют собой независимо выбранные насыщенные или ненасыщенные алифатические цепи, каждая из которых обычно содержит 14, 16, 18, 20 или 22 атома углерода. Когда боковая цепь жирной кислоты является ненасыщенной, она может содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более двойных углерод-углеродных связей. Кроме того, молекула ВМР может содержать один или два заместителя простого алкилового эфира, где карбонильный кислород одной или обеих боковых цепей жирной кислоты заменен двумя атомами водорода. Номенклатура, которая используется в данном документе для описания конкретных видов ВМР, относится к видам, имеющим две боковые цепи жирных кислот, где структуры боковых цепей жирных кислот указаны в скобках в формате ВМР (*например*, ВМР(18:1_18:1)). Цифры соответствуют стандартному формату обозначения жирных кислот: «количество атомов углерода жирной кислоты:количество двойных связей». Префикс «e-» используется для обозначения присутствия заместителя простого алкилового эфира, где карбонильный кислород боковой цепи жирной кислоты заменен двумя атомами водорода. Например, «e» в «ВМР(16:0e_18:0)» означает, что боковая цепь, имеющая 16 атомов углерода, является заместителем простого алкилового

эфира.

«Полипептид програнулина» или «полипептид PGRN» относится к богатому цистеином лизосомному белку, кодируемому геном *GRN*. Полипептид програнулина может содержать последовательность програнулина человека, *например*, последовательность SEQ ID NO:211 или 212. Полипептид програнулина может представлять собой преждевременно созревший програнулин, имеющий последовательность SEQ ID NO:211, в которой первые 17 аминокислот указывают на сигнальный пептид. Полипептид програнулина может представлять собой зрелый програнулин, в котором отщеплен сигнальный пептид из 17 аминокислот. Зрелый програнулин может содержать последовательность SEQ ID NO:212. Полипептид програнулина может включать последовательность отличных от человека видов, не относящихся к человеку, *например*, мыши (номер доступа NP_032201.2), крысы (NP_058809.2 или NP_001139314.1) и шимпанзе (XP_016787144.1 или XP_016787145.1) в либо в преждевременно созревшей, либо в зрелой форме.

«Вариант полипептида програнулина» или «вариант полипептида PGRN» относится к функциональному варианту програнулина дикого типа, который имеет по меньшей мере 90% идентичности последовательности (*например*, 92%, 94%, 96%, 98% или 99% идентичности последовательностей) со зрелым полипептидом програнулина дикого типа (*например*, SEQ ID NO:212). Вариант полипептида програнулина может иметь функции, аналогичные функциям програнулина дикого типа, *например*, где вариант полипептида програнулина также связывает сортилин или просапозин, регулирует активность и уровни различных лизосомных белков (*например*, катепсинов), способствует росту нейритов и выживанию нейронов и/или любую другую функцию, описанную в данном документе. Вариант полипептида програнулина включает гранулины G, F, B, A, C, D и E полноразмерный програнулин (*например*, SEQ ID NO:212).

Термин «програнулин-ассоциированное расстройство» относится к любому патологическому состоянию, относящемуся к програнулину, включая экспрессию, процессинг, гликозилирование, клеточное поглощение, направленную миграцию и/или функцию. Термин «расстройство, ассоциированное со сниженным уровнем програнулина» относится к любому патологическому состоянию, которое непосредственно или опосредованно является следствием уровня програнулина, недостаточного для обеспечения (*т. е.* слишком низкого для обеспечения) нормальной физиологической функции внутри клетки, ткани и/или у субъекта, а также предшественником такого состояния. В некоторых вариантах осуществления програнулин-ассоциированное расстройство представляет собой нейродегенеративное

заболевание (*например*, лобно-височную деменцию (ЛВД)) или лизосомальную болезнь накопления.

Термин «уровень програнулина» относится к количеству, концентрации и/или уровню активности програнулина, который присутствует либо у субъекта, либо в образце (*например*, в образце, полученном от субъекта). Уровень програнулина может относиться к абсолютному количеству, концентрации и/или уровню активности програнулина, который присутствует, или может относиться к относительному количеству, концентрации и/или уровню активности. Термин также относится к количеству или концентрации полипептида програнулина и/или мРНК програнулина (*например*, экспрессируемой из гена *GRN*), которая присутствует.

Термин «макрофаг из костного мозга» или «BMDM» относится к клетке макрофага, которая генерируется или получена *in vitro* из костного мозга млекопитающего (*например*, костного мозга, полученного от субъекта). В качестве неограничивающего примера BMDM могут быть сгенерированы путем культивирования недифференцированных клеток костного мозга в присутствии цитокина, такого как макрофагальный колониестимулирующий фактор (М-КСФ).

«Рецептор трансферрина» или «TfR» в контексте настоящего раскрытия относится к белку трансферриновому рецептору 1. Последовательность полипептида рецептора трансферрина 1 человека приведена в SEQ ID NO:92. Также известны последовательности белка рецептора трансферрина 1 других видов (*например*, шимпанзе, номер доступа XP_003310238.1; макака-резуса, NP_001244232.1; собаки, NP_001003111.1; крупного рогатого скота, NP_001193506.1; мыши, NP_035768.1; крысы, NP_073203.1; и курицы, NP_990587.1). Термин «трансферриновый рецептор» также включает аллельные варианты иллюстративных эталонных последовательностей, *например*, человеческих последовательностей, которые кодируются геном в хромосомном локусе белка рецептора трансферрина 1. Полноразмерный белок рецептор трансферрина включает короткую N-концевую внутриклеточную область, трансмембранную область и большой внеклеточный домен. Внеклеточный домен характеризуется тремя доменами: протеазоподобным доменом, спиральным доменом и апикальным доменом.

В контексте данного документа термин «полипептид Fc» относится к C-концевой области встречающегося в природе полипептида тяжелой цепи иммуноглобулина, который характеризуется укладкой Ig как структурный домен. Полипептид Fc содержит последовательности константной области, включая по меньшей мере домен CH2 и/или домен CH3, и может содержать по меньшей мере часть шарнирной области. Как правило, полипептид Fc не содержит вариабельной области.

«Модифицированный полипептид Fc» относится к полипептиду Fc, который имеет по меньшей мере одну мутацию, *например*, замену, делецию или вставку, по сравнению с последовательностью полипептида Fc тяжелой цепи иммуноглобулина дикого типа, но сохраняет общую укладку Ig или структуру нативного полипептида Fc.

В контексте данного документа термин «димер полипептида Fc» относится к димеру двух полипептидов Fc. В некоторых вариантах осуществления два полипептида Fc димеризуются за счет взаимодействия между двумя доменами CH3. Если шарнирные области или части шарнирных областей присутствуют в двух полипептидах Fc, одна или более дисульфидных связей могут также образовываться между шарнирными областями двух димеризующихся полипептидов Fc.

«Модифицированный димер полипептида Fc» относится к димеру двух полипептидов Fc, в котором по меньшей мере один полипептид Fc представляет собой модифицированный полипептид Fc, который имеет по меньшей мере одну мутацию, *например*, замену, делецию или вставку, по сравнению с последовательностью полипептида Fc тяжелой цепи иммуноглобулина дикого типа. Например, модифицированный димер полипептида Fc специфически связывает TfR и имеет по меньшей мере один модифицированный полипептид Fc, имеющий по меньшей мере одну мутацию, *например*, замену, делецию или вставку, по сравнению с последовательностью полипептида Fc тяжелой цепи иммуноглобулина дикого типа.

Термин «FcRn» относится к неонатальному рецептору Fc. Связывание полипептидов Fc с FcRn снижает клиренс и увеличивает период полужизни полипептида Fc в сыворотке. Белок FcRn человека представляет собой гетеродимер, который состоит из белка размером около 50 кДа, который подобен белку главного комплекса гистосовместимости класса I (MHC), и α 2-микроглобулину размером около 15 кДа.

В контексте данного документа термин «сайт связывания FcRn» относится к области полипептида Fc, который связывается с FcRn. В IgG человека сайт связывания FcRn, пронумерованный с использованием индекса EU, включает T250, L251, M252, I253, S254, R255, T256, T307, E380, M428, H433, N434, H435 и Y436. Эти положения соответствуют положениям 20-26, 77, 150, 198 и 203-206 в SEQ ID NO:1.

В контексте данного документа термин «нативный сайт связывания FcRn» относится к области полипептида Fc, который связывается с FcRn и имеет ту же аминокислотную последовательность, что и область встречающегося в природе полипептида Fc, который связывается с FcRn.

Термины «домен CH3» и «домен CH2» в контексте данного документа относятся к полипептидам домена константной области иммуноглобулина. Для целей данной заявки

полипептид домена СН3 относится к сегменту аминокислот от примерно положения 341 до примерно положения 447, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU, а полипептид домена СН2 относится к сегменту аминокислот примерно с положения 231 до примерно положения 340, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU, и не включает последовательности шарнирной области. Полипептиды доменов СН2 и СН3 также могут быть пронумерованы в соответствии со схемой нумерации IMGT (ImMunoGeneTics), в которой нумерация доменов СН2 составляет 1-110, а нумерация доменов СН3 составляет 1-107, в соответствии с Научной нумерацией диаграмм IMGT (веб-сайт IMGT). Домены СН2 и СН3 являются частью области Fc иммуноглобулина. Область Fc относится к сегменту аминокислот от примерно положения 231 до примерно положения 447, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU, но, согласно использованию в данном документе, может включать по меньшей мере часть шарнирной области антитела. Иллюстративной последовательностью шарнирной области является шарнирная последовательность IgG1 человека EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:91).

Термины «дикий тип», «нативный» и «встречающийся в природе» по отношению к домену СН3 или СН2 используются в данном документе для обозначения домена, последовательность которого встречается в природе.

В контексте данного раскрытия термин «мутант» в отношении мутантного полипептида или мутантного полинуклеотида используется взаимозаменяемо с термином «вариант». Вариант по отношению к указанной эталонной последовательности домена СН3 или СН2 дикого типа может включать встречающиеся в природе аллельные варианты. «Не встречающийся в природе» домен СН3 или СН2 относится к варианту или мутантному домену, который не присутствует в клетке в природе и, который получают путем генетической модификации, *например*, с использованием технологии генной инженерии или методик мутагенеза, природного полинуклеотида или полипептида домена СН3 или домена СН2. «Вариант» включает любой домен, содержащий по меньшей мере одну аминокислотную мутацию по отношению к дикому типу. Мутации могут включать замены, вставки и делеции.

Термин «аминокислота» относится к аминокислотам природного и искусственного происхождения, а также к аналогам аминокислот и имитаторам аминокислот, которые функционируют подобно аминокислотам природного происхождения.

Встречающиеся в природе аминокислоты представляют собой те, которые кодируются генетическим кодом, а также те аминокислоты, которые позднее модифицируются, *например*, гидроксипролин, γ -карбоксиглутамат и О-фосфосерин. Аналоги аминокислот представляют собой соединения, которые обладают сходной

базовой химической структурой, как у аминокислот природного происхождения, *т. е.* α углерод, который связан с водородом, карбоксильная группа, аминогруппа и R-группа, *например*, гомосерин, норлейцин, метионина сульфоксид, метионинметилсульфоний. Такие аналоги содержат модифицированные R группы (*например*, норлейцин) или модифицированные пептидные остовы, но сохраняют сходную базовую химическую структуру, как у аминокислот природного происхождения. «Аминокислотные миметики» относятся к химическим соединениям, которые имеют структуру, которая отличается от общей химической структуры аминокислоты, но которая функционирует подобно природной аминокислоте.

Встречающиеся в природе α -аминокислоты включают, без ограничения, аланин (Ala), цистеин (Cys), аспарагиновую кислоту (Asp), глутаминовую кислоту (Glu), фенилаланин (Phe), глицин (Gly), гистидин (His), изолейцин (Ile), аргинин (Arg), лизин (Lys), лейцин (Leu), метионин (Met), аспарагин (Asn), пролин (Pro), глутамин (Gln), серин (Ser), треонин (Thr), валин (Val), триптофан (Trp), тирозин (Tyr) и их комбинации. Стереоизомеры встречающихся в природе α -аминокислот включают, без ограничения, D-аланин (D-Ala), D-цистеин (D-Cys), D-аспарагиновую кислоту (D-Asp), D-глутаминовую кислоту (D-Glu), D-фенилаланин (D-Phe), D-гистидин (D-His), D-изолейцин (D-Ile), D-аргинин (D-Arg), D-лизин (D-Lys), D-лейцин (D-Leu), D-метионин (D-Met), D-аспарагин (D-Asn), D-пролин (D-Pro), D-глутамин (D-Gln), D-серин (D-Ser), D-треонин (D-Thr), D-валин (D-Val), D-триптофан (D-Trp), D-тирозин (D-Tyr) и их комбинации.

Аминокислоты могут называться в данном документе либо своими обычно известными трехбуквенными обозначениями, либо однобуквенными обозначениями, рекомендованными Комиссией по биохимической номенклатуре IUPAC-IUB.

Термины «полипептид» и «пептид» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения полимера из аминокислотных остатков в одной цепи. Термины применяются к полимерам аминокислот, в которых один или более аминокислотных остатков представляют собой искусственный химический имитатор соответствующей встречающейся в природе аминокислоты, а также встречающихся в природе аминокислотным полимерам и не встречающихся в природе полимерам аминокислот. Полимеры аминокислот могут включать полностью L-аминокислоты, полностью D-аминокислоты или смесь L- и D-аминокислот.

Термин «белок» в контексте данного документа относится либо к полипептиду, либо к димеру (*т.е.* двум), либо к мультимеру (*т.е.* трем или более) одноцепочечных полипептидов. Одноцепочечные полипептиды белка могут быть соединены ковалентной связью, *например*, дисульфидной связью или нековалентными взаимодействиями.

Термин «консервативная замена», «консервативная мутация» или «консервативно модифицированный вариант» относится к изменению, которое приводит к замене аминокислоты другой аминокислотой, которая может быть отнесена к категории имеющей аналогичный признак. Примеры категорий консервативных аминокислотных групп, определенных таким образом, могут включать: «заряженную/полярную группу», включая Glu (глутаминовую кислоту или E), Asp (аспарагиновую кислоту или D), Asn (аспарагин или N), Gln (глутамин или Q), Lys (лизин или K), Arg (аргинин или R) и His (гистидин или H); «ароматическую группу», включая Phe (фенилаланин или F), Tyr (тирозин или Y), Trp (триптофан или W) и (гистидин или H); и «алифатическую группу», включая Gly (глицин или G), Ala (аланин или A), Val (валин или V), Leu (лейцин или L), Ile (изолейцин или I), Met (метионин или M), Ser (серин или S), Thr (треонин или T) и Cys (цистеин или C). Внутри каждой группы также можно выделить подгруппы. Например, группа заряженных или полярных аминокислот может быть подразделена на подгруппы, включая: «положительно заряженную подгруппу», включающую Lys, Arg и His; «отрицательно заряженную подгруппу», включающую Glu и Asp; и «полярную подгруппу», включающую Asn и Gln. В другом примере ароматическая или циклическая группа может быть подразделена на подгруппы, включая: «подгруппу азотного кольца», включающую Pro, His и Trp; и «фенильную подгруппу», включающую Phe и Tyr. В другом дополнительном примере алифатическая группа может быть подразделена на подгруппы, *например*, «алифатическую неполярную подгруппу», включающую Val, Leu, Gly и Ala; и «алифатическую слабополярную подгруппу», включающую Met, Ser, Thr и Cys. Примеры категорий консервативных мутаций включают аминокислотные замены аминокислот в подгруппах, указанных выше, таких как, но не ограничиваясь ими: Lys на Arg или наоборот, так что можно поддерживать положительный заряд; Glu вместо Asp или наоборот, таким образом, чтобы можно было сохранить отрицательный заряд; Ser для Thr или наоборот, таким образом, чтобы можно было сохранить свободный -ОН; и Gln для Asn или наоборот, таким образом, чтобы можно было сохранить свободный -NH₂. В некоторых вариантах осуществления гидрофобные аминокислоты заменяют встречающуюся в природе гидрофобную аминокислоту, *например*, в активном сайте, чтобы сохранить гидрофобность.

Термины «идентичный» или процент «идентичности» в контексте двух или более полипептидных последовательностей относятся к двум или более последовательностям или подпоследовательностям, которые являются одинаковыми или имеют указанный процент аминокислотных остатков, *например*, по меньшей мере, 60% идентичности, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%,

по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% или более, которые являются идентичными в указанной области при сравнении и выравнивании для максимального соответствия в окне сравнения или обозначенной области, как измерено с использованием алгоритма сравнения последовательностей или путем ручного выравнивания и визуальной проверки.

Для сравнения последовательностей полипептидов, как правило, одна аминокислотная последовательность действует как эталонная последовательность, с которой сравнивают кандидатную последовательность. Выравнивание может быть выполнено с использованием различных способов, доступных специалисту в данной области техники, *например*, визуального выравнивания или с использованием общедоступного программного обеспечения с использованием известных алгоритмов для достижения максимального выравнивания. Такие программы включают программы BLAST, ALIGN, ALIGN-2 (Genentech, Южный Сан-Франциско, штат Калифорния) или Megalign (DNASTAR). Параметры, используемые для выравнивания для достижения максимального выравнивания, могут быть определены специалистом в данной области техники. Для сравнения последовательностей полипептидных последовательностей для целей данной заявки используется стандартный белок BLAST алгоритма BLASTP для выравнивания двух последовательностей белков с параметрами по умолчанию.

Термины «соответствующий», «определенный со ссылкой на» или «пронумерованный со ссылкой на» при использовании в контексте идентификации данного аминокислотного остатка в полипептидной последовательности относятся к положению остатка указанной эталонной последовательности, когда указанная аминокислотная последовательность максимально выровнена и сравнена с эталонной последовательностью. Таким образом, *например*, аминокислотный остаток в модифицированном полипептиде Fc «соответствует» аминокислоте в SEQ ID NO:1, когда остаток выравнивается с аминокислотой в SEQ ID NO:1 при оптимальном выравнивании с SEQ ID NO:1. Полипептид, который выровнен по эталонной последовательности, не обязательно должен иметь ту же длину, что и эталонная последовательность.

«Аффинность связывания» в контексте данного документа относится к силе нековалентного взаимодействия между двумя молекулами, *например*, одним сайтом связывания на полипептиде и мишенью, *например*, рецептором трансферрина, с которым он связывается. Таким образом, *например*, термин может относиться к взаимодействиям 1:1 между полипептидом и его мишенью, если иное не указано или не ясно из контекста. Аффинность связывания может быть определена количественно путем измерения константы равновесной диссоциации (K_D), которая относится к константе скорости

диссоциации (k_d , время⁻¹), разделенной на константу скорости ассоциации (k_a , время⁻¹ М⁻¹). K_D можно определить путем измерения кинетики образования и диссоциации комплексов, *например*, с использованием способов поверхностного плазмонного резонанса (ППР), *например*, системы Biacore™; анализов кинетического исключения, такие как KinExA®; и биослойной интерферометрии (*например*, с использованием платформы ForteBio® Octet®). В контексте данного документа термин «аффинность связывания» включает не только формальные аффинности связывания, такие как те, которые отражают взаимодействия 1:1 между полипептидом и его мишенью, но также кажущиеся аффинности, для которых рассчитывают K_D , которые могут отражать avidное связывание.

Фраза «специфически связывается» или «селективно связывается» с мишенью, *например*, рецептором трансферрина в отношении к полипептиду, включающему модифицированный полипептид Fc, связывающий рецептор трансферрина, как описано в данном документе, относится к реакции связывания, посредством которой полипептид связывается с мишенью с большей аффинностью, большей avidностью и/или большей продолжительностью, чем он связывается с отличной по структуре мишенью, *например*, мишенью, не входящей в семейство рецепторов трансферрина. В типичных вариантах осуществления полипептид имеет по меньшей мере в 5 раз, 10 раз, 25 раз, 50 раз, 100 раз, 1000 раз, 10 000 раз или более большую аффинность к рецептору трансферрина по сравнению с неродственной мишенью при поведении анализа в тех же условиях анализа аффинности. Термин «специфическое связывание», «специфически связывается с» или «специфичный для» конкретной мишени (*например*, TfR) в контексте данного документа может проявляться, например, молекулой, имеющей константу равновесной диссоциации K_D для мишени, с которой она связывается, *например*, 10^{-4} М или меньше, *например*, 10^{-5} М, 10^{-6} М, 10^{-7} М, 10^{-8} М, 10^{-9} М, 10^{-10} М, 10^{-11} М или 10^{-12} М. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc специфически связывается с эпитопом на рецепторе трансферрина, который является консервативным среди видов (*например*, структурно консервативным среди видов), *например*, консервативным между видами отличными от человека приматов и людей (*например*, структурно консервативным между отличными от человека приматами и людьми). В некоторых вариантах осуществления полипептид может связываться исключительно с рецептором трансферрина человека.

Термины «лечение», «лечить» и тому подобное используются в данном документе для обозначения достижения желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Термины «лечить» или «лечение» могут относиться к любым признакам успеха при лечении или облегчении заболевания, включая програнулин-ассоциированные

расстройства, такие как нейродегенеративные заболевания (*например*, лобно-височная деменция (ЛВД), нейрональный цероидный липофусциноз (НЦЛ), болезнь Ниманна — Пика типа А (НПА), болезнь Ниманна — Пика типа В (НПВ), болезни Ниманна — Пика типа С (НПС), C9ORF72-ассоциированный боковой амиотрофический склероз (БАС)/ЛВД, спорадический БАС, болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Гоше (*например*, болезнь Гоше типов 2 и 3) и болезнь Паркинсона), атеросклероз, расстройство, ассоциированное с TDP-43, и возрастная макулярная дегенерация (ВМД), включая любые объективные или субъективные параметры, такие как ослабление, ремиссия, улучшение выживаемости пациентов, увеличение времени или частоты выживания, уменьшение симптомов или повышение переносимости расстройства для пациента, замедление скорости дегенерации или ухудшения, или улучшение физического или психического состояния пациента. Лечение или облегчение симптомов может основываться на объективных или субъективных параметрах. Эффект лечения можно сравнить с индивидуумом или группой лиц, не получающих лечение, или с тем же пациентом до лечения или в другое время во время лечения.

Термины «субъект», «индивидуум» и «пациент», используемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к млекопитающему, включая, но не ограничиваясь ими, людей, отличных от человека приматов, грызунов (*например*, крыс, мышей и морских свинок), кроликов, коров, свиней, лошадей и другие виды млекопитающих. В одном варианте осуществления пациент является человеком.

Термин «фармацевтически приемлемый наполнитель» относится к неактивному фармацевтическому ингредиенту, который является биологически или фармакологически совместимым для применения у людей или животных, такому как, но не ограничиваясь ими, буфер, носитель или консервант.

В контексте данного документа термин «терапевтическое количество» или «терапевтически эффективное количество» агента представляет собой количество агента, которое лечит симптомы заболевания у субъекта.

Термин «вводить» относится к способу доставки агентов, соединений или композиций к желаемому месту биологического действия. Данные способы включают, но не ограничиваются ими, местную доставку, парентеральную доставку, внутривенную доставку, внутрикожную доставку, внутримышечную доставку, интратекальную доставку, доставку в толстую кишку, ректальную доставку или внутрибрюшинную доставку. В одном варианте осуществления описанные в данном документе полипептиды вводят внутривенно.

III. ПРОГРАНУЛИН-ЗАМЕСТИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

В некоторых аспектах в данном документе описан слитый белок, который включает: (i) полипептид Fc, который может содержать модификации (*например*, одну или более модификаций, способствующих гетеродимеризации), или может представлять собой полипептид Fc дикого типа; и полипептид програнулина; и (ii) полипептид Fc, который может содержать модификации (*например*, одну или более модификаций, способствующих гетеродимеризации) или может представлять собой полипептид Fc дикого типа; и необязательно полипептид програнулина. В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc могут содержать модификации, которые приводят к связыванию с рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), *например*, рецептором трансферрина (TfR). Дефицит полипептида програнулина может возникать при нейродегенеративных заболеваниях. Полипептид програнулина может возникать при лобно-височной деменции (ЛВД), а также при других заболеваниях, таких как болезнь Гоше и болезнь Альцгеймера (БА). Полипептид програнулина, включенный в слитый белок, может связываться с сортилином или просапозинном. В конкретных вариантах осуществления полипептид програнулина включен в слитый белок с сортилином.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок, содержащий полипептид програнулина и необязательно модифицированный полипептид Fc, который связывается с рецептором ГЭБ, *например*, TfR-связывающий полипептид Fc содержит вариант полипептида програнулина.

В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина или его вариант, который присутствует в слитом белке, описанном в данном документе, сохраняет по меньшей мере 25% своей активности по сравнению с его активностью, когда он не присоединен к полипептиду Fc или TfR-связывающему полипептиду Fc. В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина или его вариант, который присутствует в слитом белке, описанном в данном документе, сохраняет по меньшей мере 10% или по меньшей мере 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% своей активности по сравнению с его активностью, когда он не присоединен к полипептиду Fc или TfR-связывающему полипептиду Fc. В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина или его вариант, который присутствует в слитом белке, описанном в данном документе, сохраняет по меньшей мере 80%, 85%, 90% или 95% своей активности по сравнению с его активностью, когда он не присоединен к полипептиду Fc или TfR-связывающему полипептиду Fc. Слитый белок, описанный в данном документе, может представлять собой димер Fc:слитый белок PGRN,

содержащий: (а) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:215, и (b) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:210. Слитый белок, описанный в данном документе, может представлять собой димер Fc:слитый белок PGRN, содержащий: (а) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:227, и (b) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:210. Слитый белок, описанный в данном документе, может представлять собой димер Fc:слитый белок PGRN, содержащий: (а) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:215, и (b) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:291. Слитый белок, описанный в данном документе, может представлять собой димер Fc:слитый белок PGRN, содержащий: (а) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:227, и (b) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:291.

В некоторых вариантах осуществления слияние с полипептидом Fc не снижает экспрессию и/или активность полипептида програнулина или его варианта. В некоторых вариантах осуществления слияние с TfR-связывающим полипептидом Fc не снижает экспрессию и/или активность полипептида програнулина.

IV. ПОКАЗАНИЯ

В некоторых вариантах осуществления слитые белки, описанные в данном документе, содержащие полипептид програнулина, применимы для лечения одного или более нейродегенеративных заболеваний, выбранных из группы, состоящей из болезни Альцгеймера, первичной возрастной таупатии, деменции с тельцами Леви, прогрессирующего надъядерного паралича (ПНП), лобно-височной деменции, лобно-

височной деменции с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17, деменции с аргирофильным зерном, бокового амиотрофического склероза, бокового амиотрофического склероза/комплекса паркинсонизм-деменция Гуама (БАС-КПД), кортикобазальной дегенерации, хронической травматической энцефалопатии, болезни Крейтцфельда — Якоба, деменции боксеров, диффузных нейрофибриллярных клубков с кальцификацией, синдрома Дауна, семейной деменции британского типа, семейной деменции датского типа, болезни Герстмана — Штраусслера — Шейнкера, глобулярной глиальной таупатии, паркинсонизма гваделупского типа с деменцией, ПНП гваделупского типа, болезни Галлервордена — Шпатца, наследственной диффузной лейкоэнцефалопатии со сфероидами (НДЛС), миозита с тельцами включения, множественной системной атрофии, миотонической дистрофии, болезни Насу — Хакола, деменции с преобладанием нейрофибриллярных клубков, болезни Ниманна — Пика типа С, паллидо-понтонигральной дегенерации, болезни Паркинсона, болезни Пика, постэнцефалитного паркинсонизма, церебральной амилоидной ангиопатии, вызванной прионным белком, прогрессирующего субкортикального глиоза, подострого склерозирующего панэнцефалита и деменции, характеризующейся только клубками.

Програнулин-ассоциированное расстройство может представлять собой нейродегенеративное заболевание. Ряд нейродегенеративных заболеваний может быть вызван или связан с лизосомными болезнями накопления, характеризующимися накоплением непереваренных или частично переваренных макромолекул, что в конечном итоге приводит к дисфункции клеток и организма, а также к клиническим отклонениям. Лизосомные болезни накопления определяются типом накопленного субстрата и могут быть классифицированы как нарушения накопления холестерина, сфинголипидозы, олигосахаридозы, муколипидозы, мукополисахаридозы, нарушения накопления липопротеинов, нейрональные цероидные липофусцинозы и другие. В некоторых случаях лизосомальные болезни накопления также включают дефициты или дефекты белков, которые приводят к накоплению макромолекул, таких как белки, необходимые для нормальной посттрансляционной модификации лизосомных ферментов или белков, важных для правильной лизосомной направленной миграции. Примеры нейродегенеративных заболеваний, которые могут быть вызваны или связаны с лизосомными болезнями накопления, включают, *например*, лобно-височную деменцию (ЛВД), нейрональный цероидный липофусциноз (НЦЛ), болезнь Ниманна — Пика типа А (НПА), болезнь Ниманна — Пика типа В (НПВ), болезни Ниманна — Пика типа С (НПС), C9ORF72-ассоциированный боковой амиотрофический склероз (БАС)/ЛВД, спорадический БАС, болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Гоше (*например*, болезнь Гоше

типов 2 и 3) и болезнь Паркинсона. Примеры других програнулин-ассоциированных расстройств включают, *например*, атеросклероз, расстройство, ассоциированное с TDP-43, и возрастную макулярную дегенерацию (ВМД). При таких програнулин-ассоциированных расстройствах (*например*, нейродегенеративном заболевании, таком как лобно-височная деменция (ЛВД)) могут быть полезны слитые белки или полипептиды, содержащие полипептид програнулина или его вариант, как описано в данном документе.

Лобно-височная деменция (ЛВД) представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное расстройство. ЛВД включает спектр клинически, патологически и генетически гетерогенных заболеваний, проявляющихся избирательным поражением лобных и височных долей (Gazzina et al., *Eur J Pharmacol.* 817:76-85, 2017). Клинические проявления ЛВД включают изменения в поведении и личности, дефициты исполнительных функций лобной доли и языковую дисфункцию. На основании разнообразия клинических фенотипов были идентифицированы различные проявления, такие как поведенческие варианты ЛВД (пвЛВД) и первичная прогрессирующая афазия (ППА), которые могут представлять собой нефлюэнтный/аграмматический вариант ППА (авППА), либо семантический вариант ППА (свППА). Данные клинические проявления могут также перекрываться с атипичным паркинсонизмом, таким как кортикобазальный синдром (КБС), прогрессирующий надъядерный паралич (ПНП) и боковой амиотрофический склероз (БАС) (Gazzina et al., *Eur J Pharmacol.* 817:76-85, 2017). ЛВД ассоциируется с различными невропатологическими признаками, включая патологию тау-белка в нейронах и астроцитах или цитоплазматические включения убиквитина в нейронах. Трансактивирующий ДНК-связывающий белок с молекулярной массой 43 кДа (TDP-43) является наиболее выраженной патологией убиквитинированного белка, накапливающейся в большинстве случаев ЛВД, а также при БАС (Petkau and Leavitt, *Trends Neurosci.* 37(7):388-98, 2014). ЛВД является значимой причиной ранней деменции, причем до 80% случаев возникают в возрасте от 45 до 64 лет. Заболевание также представляет собой значимый семейный компонент: в около 30–50% случаев сообщается о наличии заболевания в семейном анамнезе (Petkau and Leavitt, *выше*).

В то время как несколько генов были связаны с ЛВД, одним из наиболее часто мутирующих генов при ЛВД является *GRN*, который отображается на хромосоме 17q21 человека и кодирует богатый цистеином белок програнулин (также известный как проэпителин и акрогранин). Недавние оценки показывают, что мутации *GRN* приходятся на 5-20% пациентов с ЛВД с положительным семейным анамнезом и 1-5% спорадических случаев (Rademakers et al., *выше*). Известны точные молекулярные и клеточные механизмы, лежащие в основе нейродегенерации и болезнетворных процессов при *GRN*-

ассоциированной ЛТД, хотя фенотипическая характеристика мышей с нокаутом *GRN* в сочетании с гистологическим анализом головного мозга пациентов указывает на то, что и воспаление, и лизосомные дефекты являются центральными для заболевания (Kao et al., *Nat Rev Neurosci.* 18(6):325-333, 2017). Действительно, массивный глиоз присутствует в областях коры головного мозга пациентов (Lui et al., *Cell.* 165(4):921-35, 2016), а липофусцин, лизосомный пигмент, указывающий на лизосомное расстройство, как сообщалось, был обнаружен в глазу и коре головного мозга носителей мутировавшего *GRN*, включая как предсимптомных индивидуумов, так и пациентов (Ward et al., *Sci Transl Med.* 9(385), 2017).

Более семидесяти мутаций *GRN* при заболевании были зарегистрированы и картированы по всему гену, где они приводят к подтвержденным или спрогнозированным аллелям с утратой функции (LOF) (Ji et al. *J Med Genet.* 54:145–154, 2017). Большинство гетерозиготных мутаций, связанных с ЛВД, вызывают снижение уровня мРНК примерно на 50%, в первую очередь в результате нонсенс-опосредованной деградации мРНК и сопоставимого снижения уровня белка програнулина (Petkau and Leavitt, *supra*; Kao et al., *выше*). Более низкие уровни програнулина также обнаруживаются в крови (сыворотке) и спинномозговой жидкости (СМЖ) носителей, включая предсимптомных индивидуумов (Finch et al., *Nat Rev Neurosci.* 18(6):325-333, 2017; Goossens et al., *Alzheimers Res Ther.* 10(1):31, 2018; Meeter et al., *Dement Geriatr Cogn Dis Extra.* 6(2):330-340, 2016). Таким образом, считается, что гаплонедостаточность является основным механизмом развития заболевания при *GRN*-ассоциированной ЛВД, что позволяет предположить, что терапевтические подходы, которые повышают уровни програнулина у носителей, могут задерживать возраст начала, а также прогрессирование ЛВД (Petkau and Leavitt, *supra*; Kao et al., *выше*). Это мнение подтверждается генетическими исследованиями у человека, показывающими, что вариант гена *TMEM106B* как повышает уровни програнулина на 25%, так и задерживает возраст начала *GRN*-ассоциированной ЛВД на 13 лет (Nicholson and Rademakers, *Acta Neuropathol.* 132(5):639-651, 2016).

Сообщалось также о гомозиготных мутациях *GRN* несмотря на то, что носители обладали совершенно другим клиническим фенотипом, известным как нейрональный цероидный липофусциноз (НЦЛ) (болезнь Баттена; частота возникновения заболевания 1-2,5 на 100 000 живорожденных; Cotman et al., *Curr Neurol Neurosci Rep.* 13(8):366, 2013), который является лизосомной болезнью накопления (Smith et al., *Am J Hum Genet.* 90(6):1102-7, 2012; Almeida et al., *Neurobiol Aging.* 41:200.e1-200.e5, 2016). *GRN* фактически является одним из 14 генов нейронального цероидного липофусциноза (*CLN*), которые, как сообщается, связаны с NCL, а *GRN* также известен как CLN11 (Kollmann et

al., *Biochim Biophys Acta*. 1832(11):1866-81, 2013). Слитые белки или полипептиды, содержащие полипептид програнулина или его вариант, как описано в данном документе, могут проявлять противовоспалительные свойства и усиливать лизосомную функцию, любое из которых может быть полезным при НЦЛ.

Пациенты с болезнью Гоше, несущие гомозиготные мутации в гене *GBA*, имеют более низкие уровни програнулина в своей сыворотке (Jian et al., *EBioMedicine* 11:127–137, 2016). Пациенты с болезнью Паркинсона с гетерозиготными мутациями в *GBA* также могут иметь более низкие уровни програнулина. Слитые белки или полипептиды, содержащие полипептид програнулина или его вариант, как описано в данном документе, могут обеспечивать терапевтические преимущества при лечении болезни Гоше или болезни Паркинсона.

Варианты в *GRN* были связаны с БА (Rademakers et al., *supra*; Brouwers et al., *Neurology*. 71(9):656-64, 2008; Lee et al., *Neurodegener Dis*. 8(4):216-20, 2011; Viswanathan et al., *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 150B(5):747-50, 2009), а патология TDP-43 часто встречается в головном мозге пациентов с БА (Youmans and Wolozin, *Exp Neurol*. 237(1):90-5, 2012). Также было показано, что доставка гена програнулина снижает амилоидную нагрузку на мышечных моделях БА (van Kampen and Kay, *PLoS One*. 12(8):e0182896, 2017). Таким образом, слитые белки или полипептиды, содержащие полипептид програнулина или его вариант, как описано в данном документе, также могут обеспечивать терапевтические преимущества при лечении БА.

Болезни Ниманна — Пика типов А и В (НПА и НПВ) возникают вследствие мутаций в гене, кодирующем кислую сфингомиелиназу (*SMPD1*). Болезнь Ниманна — Пика типа С (НПС) возникает вследствие мутаций в генах, задействованных в транспорте холестерина, *то есть* в *NPC1* и *NPC2* (Kolter and Sandhoff, *Annu Rev Cell Dev Biol*. 21:81-103, 2005; Kobayashi et al., *Nat Cell Biol*. 1(2):113-8, 1999). Слитые белки или полипептиды, содержащие полипептид програнулина или его вариант, как описано в данном документе, могут обеспечивать терапевтические преимущества при лечении НПА, НПВ и/или НПС.

В подавляющем большинстве случаев БАС присутствует патология TDP-43, которая также характерна для пациентов, несущих мутации *GRN* (Petkau and Leavitt, *Trends Neurosci*. 37(7):388-98, 2014; Rademakers et al., *Nat Rev Neurol*. 8(8):423-34, 2012). Среди всех случаев БАС экспансии повторов GGGGCC в гене *C9ORF72* являются наиболее частой причиной БАС и значимой причиной ЛВД. Средняя частота мутаций, сообщаемая среди населения Северной Америки и Европы, составляет 37% для семейного БАС, 6% для спорадического БАС, 21% для семейной ЛВД и 6% для пациентов со

спорадической ЛВД (Rademakers et al., *выше*). Кроме того, вариант *TMEM106B*, который отыгрывает защитную функцию при *GRN*-ассоциированной ЛВД, также отыгрывает защитную функцию у пациентов с ЛВД, несущих повторные экспансии в гене *C9ORF72* (van Blitterswijk et al., *Acta Neuropathol.* 127(3):397-406, 2014). Слитые белки или полипептиды, содержащие полипептид програнулина или его вариант, как описано в данном документе, могут снижать патологию TDP-43 при *C9ORF72*-ассоциированных БАС/ЛВД за счет стимуляции лизосомальной функции и/или уменьшения воспаления.

ВМД представляет собой дегенеративное заболевание и является основной причиной слепоты в развитых странах. Она вызывает повреждение макулы, небольшого пятна, расположенного около центра сетчатки и части глаза, необходимой для четкого центрального зрения. Дегенеративные изменения глаза и потеря зрения могут быть вызваны нарушенной функцией лизосом и накоплением вредных белков за сетчаткой (Viiri et al., *PLoS One.* 8(7):e69563, 2013). По мере прогрессирования заболевания сенсорные клетки сетчатки в центральной области зрения повреждаются, что приводит к потере центрального зрения. Слитые белки или полипептиды, содержащие полипептид програнулина или его вариант, как описано в данном документе, также могут обеспечивать терапевтические преимущества при лечении ВМД.

V. МОДИФИКАЦИИ ПОЛИПЕПТИДА Fc ДЛЯ СВЯЗЫВАНИЯ РЕЦЕПТОРОВ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА (ГЭБ)

В некоторых аспектах в настоящем документе предложены слитые белки, которые способны переноситься через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Такой белок содержит модифицированный полипептид Fc, который связывается с рецептором ГЭБ. Рецепторы ГЭБ экспрессируются на эндотелии ГЭБ, а также на других типах клеток и тканей. В некоторых вариантах осуществления рецептор ГЭБ представляет собой рецептор трансферрина (TfR).

Аминокислотные остатки, обозначенные в различных модификациях Fc, включая те, которые введены в модифицированный полипептид Fc, который связывается с рецептором ГЭБ, *например*, TfR, пронумерованы в данном документе с использованием индексной нумерации EU. Любой полипептид Fc, *например*, полипептид Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4, может иметь модификации, *например*, аминокислотные замены, в одном или более положениях, как описано в данном документе.

Модифицированный (*например*, усиливающий гетеродимеризацию и/или связывание рецептора ГЭБ) полипептид Fc, присутствующий в слитом белке, описанном в данном документе, может иметь по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, не менее 85 % идентичности, по

меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью нативной области Fc или ее фрагментом, *например*, фрагментом длиной по меньшей мере 50 аминокислот или по меньшей мере 100 аминокислот или более. В некоторых вариантах осуществления нативная аминокислотная последовательность Fc представляет собой последовательность области Fc SEQ ID NO:1. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 1-110 SEQ ID NO:1, или аминокислотами 111-217 SEQ ID NO:1, или их фрагментом, *например*, фрагментом длиной по меньшей мере 50 аминокислот или по меньшей мере 100 аминокислот или более.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный (*например*, усиливающий гетеродимеризацию и/или связывание рецептора ГЭБ) полипептид Fc содержит по меньшей мере 50 аминокислот или по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95 или более, или по меньшей мере 100 аминокислот или более, которые соответствуют аминокислотной последовательности нативной области Fc. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит по меньшей мере 25 смежных аминокислот или по меньшей мере 30, 35, 40 или 45 смежных аминокислот, или 50 смежных аминокислот, или по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95 или более смежных аминокислот, или 100 или более смежных аминокислот, которые соответствуют аминокислотной последовательности нативной области Fc, такой как SEQ ID NO:1.

В некоторых вариантах осуществления, домен, который модифицирован для активности связывания рецептора ГЭБ, представляет собой домен CH3 Ig человека, такой как домен CH3 IgG1. Домен CH3 может относиться к любому подтипу IgG, *то есть* IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В контексте антител IgG1 домен CH3 относится к сегменту аминокислот от примерно положения 341 до примерно положения 447, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления, домен, который модифицирован для активности связывания рецептора ГЭБ, представляет собой домен CH2 Ig человека, такой как домен CH2 IgG. Домен CH2 может относиться к любому подтипу IgG, *то есть* IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В контексте антител IgG1 домен CH2 относится к сегменту аминокислот от примерно положения 231 до примерно положения 340, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный (*например*, связывающийся с рецептором ГЭБ) полипептид Fc, присутствующий в слитом белке, описанном в данном документе, содержит по меньшей мере одну, две или три замены; и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в положениях аминокислот, включающих 266, 267, 268, 269, 270, 271, 295, 297, 298 и 299, в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный (*например*, связывающийся с рецептором ГЭБ) полипептид Fc, присутствующий в слитом белке, описанном в данном документе, содержит по меньшей мере одну, две или три замены; и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, , пять, шесть, семь восемь или девять замен в положениях аминокислот, включающих 274, 276, 283, 285, 286, 287, 288, 289 и 290, в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный (*например*, связывающийся с рецептором ГЭБ) полипептид Fc, присутствующий в слитом белке, описанном в данном документе, содержит по меньшей мере одну, две или три замены; и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в положениях аминокислот, включающих 268, 269, 270, 271, 272, 292, 293, 294, 296 и 300, в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный (*например*, связывающийся с рецептором ГЭБ) полипептид Fc, присутствующий в слитом белке, описанном в данном документе, содержит по меньшей мере одну, две или три замены; и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, , пять, шесть, семь восемь или девять замен в положениях аминокислот, включающих 272, 274, 276, 322, 324, 326, 329, 330 и 331, в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный (*например*, связывающийся с рецептором ГЭБ) полипептид Fc, присутствующий в слитом белке, описанном в данном документе, содержит по меньшей мере одну, две или три замены; и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, пять, шесть или семь замен в положениях аминокислот, включающих 345, 346, 347, 349, 437, 438, 439 и 440, в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный (*например*, связывающийся с рецептором ГЭБ) полипептид Fc, присутствующий в слитом белке, описанном в данном документе, содержит по меньшей мере одну, две или три замены; и в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в положениях аминокислот 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421 в

соответствии со схемой нумерации EU.

Сайты связывания FcRn

В некоторых аспектах модифицированные (*например*, связывающиеся с рецептором ГЭБ) полипептиды Fc или полипептиды Fc, присутствующие в слитом белке, описанном в данном документе, которые специфически не связываются с рецептором ГЭБ, также могут содержать сайт связывания FcRn. В некоторых вариантах осуществления сайт связывания FcRn находится внутри полипептида Fc или его фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления сайт связывания FcRn включает нативный сайт связывания FcRn. В некоторых вариантах осуществления сайт связывания FcRn не содержит аминокислотных изменений относительно аминокислотной последовательности нативного сайта связывания FcRn. В некоторых вариантах осуществления нативный сайт связывания FcRn представляет собой сайт связывания IgG, *например*, сайт связывания IgG человека. В некоторых вариантах осуществления сайт связывания FcRn содержит модификацию, которая изменяет связывание FcRn.

В некоторых вариантах осуществления сайт связывания FcRn имеет один или более аминокислотных остатков, которые являются мутированными, *например*, замещенными, причем мутация(и) увеличивают период полужизни полипептида Fc в сыворотке или существенно не уменьшают период полужизни полипептида Fc в сыворотке (*т.е.* уменьшают период полужизни полипептида Fc в сыворотке не более чем на 25% по сравнению с аналогичным модифицированным полипептидом Fc, имеющим остатки дикого типа в мутированных положениях при анализе в тех же условиях). В некоторых вариантах осуществления сайт связывания FcRn имеет один или более аминокислотных остатков, которые замещены в положениях 250-256, 307, 380, 428 и 433-436 в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления один или более остатков на сайте связывания FcRn или рядом с ним являются мутированными относительно нативной последовательности IgG человека для увеличения периода полужизни модифицированного полипептида в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления мутации вводят в одно, два или три положения 252, 254 и 256. В некоторых вариантах осуществления мутации представляют собой M252Y, S254T и T256E. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит мутации M252Y, S254T и T256E. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит замену в одном, двух или всех трех положениях T307, E380 и N434 в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых

вариантах осуществления мутации представляют собой T307Q и N434A. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутации T307A, E380A и N434A. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит замены в положениях T250 и M428 в соответствии со схемой нумерации ЕС. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутации T250Q и/или M428L. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит замены в положениях M428 и N434 в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутации M428L и N434S. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутацию N434S или N434A.

VI. ПОЛИПЕПТИДЫ Fc, СВЯЗЫВАЮЩИЕ РЕЦЕПТОР ТРАНСФЕРРИНА

В данном разделе описано получение модифицированных полипептидов Fc в соответствии с раскрытием, которые связываются с рецептором трансферрина (TfR) и способны переноситься через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).

TfR-связывающие полипептиды Fc, содержащие мутации в домене СН3

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, содержит замены в домене СН3. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит домен СН3 Ig человека, такой как домен СН3 IgG, который модифицирован для TfR-связывающей активности. Домен СН3 может относиться к любому подтипу IgG, *то есть* IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В контексте антител IgG домен СН3 относится к сегменту аминокислот от примерно положения 341 до примерно положения 447, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, связывается с апикальным доменом TfR и может связываться с TfR без блокирования или иного ингибирования связывания трансферрина с TfR. В некоторых вариантах осуществления связывание трансферрина с TfR по существу не ингибируется. В некоторых вариантах осуществления связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем примерно на 50% (*например*, менее чем примерно на 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5%). В некоторых вариантах осуществления связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем примерно на 20% (*например*, менее чем примерно на 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1%).

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, содержит по меньшей мере две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в положениях 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421 в соответствии со схемой нумерации EU. Иллюстративные замены, которые могут быть введены в этих положениях, показаны в таблицах 6 и 7 в конце раздела «Примеры». В некоторых вариантах осуществления аминокислота в положении 388 и/или 421 представляет собой ароматическую аминокислоту, *например*, Trp, Phe или Tyr. В некоторых вариантах осуществления аминокислота в положении 388 представляет собой Trp. В некоторых вариантах осуществления ароматическая аминокислота в положении 421 представляет собой Trp или Phe.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одно положение, как показано ниже, замещено: Leu, Tyr, Met или Val в положении 384; Leu, Thr, His или Pro в положении 386; Val, Pro или кислой аминокислотой в положении 387; ароматической аминокислотой, *например*, Trp в положении 388; Val, Ser или Ala в положении 389; кислой аминокислотой, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro в положении 413; Thr или кислой аминокислотой в положении 416; или Trp, Tyr, His или Phe в положении 421. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc может содержать консервативную замену, *например*, аминокислоту в одной и той же зарядной группировке, гидрофобной группировке, кольцевой группировке боковой цепи (*например*, ароматические аминокислоты) или размерной группировке, и/или полярной или неполярное группирование указанной аминокислоты в одном или более положениях в наборе. Таким образом, *например*, Ile может присутствовать в положении 384, 386 и/или положении 413. В некоторых вариантах осуществления кислая аминокислота в положении один, два или в каждом из положений 387, 413 и 416 представляет собой Glu. В других вариантах осуществления кислая аминокислота в одном, двух или каждом из положений 387, 413 и 416 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления два, три, четыре, пять, шесть, семь или все восемь положений 384, 386, 387, 388, 389, 413, 416 и 421 имеют аминокислотную замену, как указано в данном абзаце.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, который является модифицированным, как описано в двух предыдущих абзацах, содержит нативный Asn в положении 390. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Gly, His, Gln, Leu, Lys, Val, Phe, Ser, Ala или Asp в положении 390. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих 380, 391, 392 и 415 в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления Trp,

Tyr, Leu или Gln могут присутствовать в положении 380. В некоторых вариантах осуществления Ser, Thr, Gln или Phe могут присутствовать в положении 391. В некоторых вариантах осуществления Gln, Phe или His могут присутствовать в положении 392. В некоторых вариантах осуществления Glu может присутствовать в положении 415.

В определенных вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или одиннадцать положений, выбранных из следующих: Trp, Leu или Glu в положении 380; Tyr или Phe в положении 384; Thr в положении 386; Glu в положении 387; Trp в положении 388; Ser, Ala, Val или Asn в положении 389; Ser или Asn в положении 390; Thr или Ser в положении 413; Glu или Ser в положении 415; Glu в положении 416; и/или Phe в положении 421. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит все одиннадцать следующих положений: Trp, Leu или Glu в положении 380; Tyr или Phe в положении 384; Thr в положении 386; Glu в положении 387; Trp в положении 388; Ser, Ala, Val или Asn в положении 389; Ser или Asn в положении 390; Thr или Ser в положении 413; Glu или Ser в положении 415; Glu в положении 416; и/или Phe в положении 421.

В определенных вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Leu или Met в положении 384; Leu, His или Pro в положении 386; Val в положении 387; Trp в положении 388; Val или Ala в положении 389; Pro в положении 413; Thr в положении 416; и/или Trp в положении 421. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит Ser, Thr, Gln или Phe в положении 391. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 380 и/или Gln, Phe или His в положении 392. В некоторых вариантах осуществления Trp присутствует в положении 380 и/или Gln присутствует в положении 392. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc не имеет Trp в положении 380.

В других вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Tyr в положении 384; Thr в положении 386; Glu или Val в положении 387; Trp в положении 388; Ser в положении 389; Ser или Thr в положении 413; Glu в положении 416; и/или Phe в положении 421. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит нативный Asn в положении 390. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит Trp, Tyr, Leu или Gln в положении 380; и/или Glu в положении 415. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc дополнительно содержит Trp в положении 380 и/или Glu в положении 415.

В дополнительных вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc

дополнительно содержит одну, две или три замены в положениях, включающих 414, 424 и 426 в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления положение 414 представляет собой Lys, Arg, Gly или Pro; положение 424 представляет собой Ser, Thr, Glu или Lys; и/или положение 426 представляет собой Ser, Trp или Gly.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит одну или более из следующих замен: Trp в положении 380; Thr в положении 386; Trp в положении 388; Val в положении 389; Thr или Ser в положении 413; Glu в положении 415; и/или Phe в положении 421 в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO:4-90, 93-96 и 101-104 (*например*, SEQ ID NO:34-38, 58 и 60-90). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:4-90, 93-96 и 101-104 (*например*, SEQ ID NO:34-38, 58 и 60-90). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит аминокислоты в положениях индекса EU 384-390 и/или 413-421 любой из SEQ ID NO:4-90, 93-96 и 101-104 (*например*, SEQ ID NO:34-38, 58 и 60-90). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит аминокислоты в положениях индекса EU 380-390 и/или 413-421 любой из 4-90, 93-96 и 101-104 (*например*, SEQ ID NO:34-38, 58 и 60-90). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит аминокислоты в положениях индекса EU 380-392 и/или 413-426 любой из SEQ ID NO:4-90, 93-96 и 101-104 (*например*, SEQ ID NO:34-38, 58 и 60-90).

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:4-90, 93-96 и 101-104 (*например*, SEQ ID NO:34-38, 58 и 60-90), и дополнительно включает по меньшей мере пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, одиннадцать, двенадцать, тринадцать, четырнадцать, пятнадцать или шестнадцать положений, пронумерованных в соответствии с индексом EU, следующим образом: Trp, Tyr, Leu, Gln или Glu в положении 380; Leu, Tyr, Met или Val в положении 384; Leu, Thr, His или Pro в положении 386; Val, Pro или кислая аминокислота в

положении 387; ароматическая аминокислота, *например*, Trp, в положении 388; Val, Ser или Ala в положении 389; Ser или Asn в положении 390; Ser, Thr, Gln или Phe в положении 391; Gln, Phe или His в положении 392; кислая аминокислота, Ala, Ser, Leu, Thr или Pro в положении 413; Lys, Arg, Gly или Pro в положении 414; Glu или Ser в положении 415; Thr или кислая аминокислота в положении 416; Trp, Tyr, His или Phe в положении 421; Ser, Thr, Glu или Lys в положении 424; и Ser, Trp или Gly в положении 426.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:34-38, 58 и 60-90. В других вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:34-38, 58 и 60-90, но в которой одна, две или три аминокислоты заменены.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит дополнительные мутации, такие как мутации, описанные в разделе VII ниже, включая, но не ограничиваясь ими, мутацию типа «выступа» (*например*, T366W, пронумерованную со ссылкой на нумерацию EU), мутации типа «впадины» (*например*, T366S, L368A и Y407V, пронумерованные со ссылкой на нумерацию EU), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L234A, L235A и/или P329G (*например*, L234A и L235A), пронумерованные со ссылкой на нумерацию EU), и/или мутации, повышающие стабильность в сыворотке (*например*, M252Y, S254T и T256E, пронумерованные со ссылкой на нумерацию EU). В качестве иллюстрации в SEQ ID NO:136-210 предложены неограничивающие примеры модифицированных полипептидов Fc с мутациями в домене CH3 (*например*, клоны CH3C.35.21.17, CH3C.35.20.1, CH3C.35.23.2, CH3C.35.23.3, CH3C.35.23.4, CH3C.35.21.17.2 и CH3C.35.23), содержащие одну или более из этих дополнительных мутаций.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» (*например*, T366W, как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU) и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:136, 137, 149, 161, 173, 185 и 197. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую последовательность из SEQ ID NO: 136, 137, 149, 161, 173, 185 и 197. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO:136.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» (*например*, T366W, как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU) и мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*,

L234A, L235A и/или P329G (*например*, L234A и L235A) как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU) и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:138, 139, 150, 151, 162, 163, 174, 175, 186, 187, 198, 199, 209 и 210. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую последовательность из SEQ ID NO: 138, 139, 150, 151, 162, 163, 174, 175, 186, 187, 198 и 199. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO:150.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» (*например*, T366W, как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU) и мутации, повышающие стабильность в сыворотке (*например*, M252Y, S254T и T256E, как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU) и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:140, 152, 164, 176, 188 и 200. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую последовательность из SEQ ID NO:140, 152, 164, 176, 188 и 200.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» (*например*, T366W, как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L234A, L235A и/или P329G (*например*, L234A и L235A) как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU) и мутации, повышающие стабильность в сыворотке (*например*, M252Y, S254T и T256E, как пронумерованы со ссылкой на нумерацию EU), и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:141, 142, 153, 154, 165, 166, 177, 178, 189, 190, 201 и 202. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую последовательность из SEQ ID NO: 141, 142, 153, 154, 165, 166, 177, 178, 189, 190, 201 и 202.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» (*например*, T366S, L368A и Y407V, как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU) и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичность с последовательностью любой из SEQ ID NO:143, 155, 167, 179, 191 и 203. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую последовательность из SEQ ID NO:143, 155, 167, 179, 191 и 203.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc

содержит мутации типа «впадины» (*например*, T366S, L368A и Y407V, как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU) и мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L234A, L235A и/или P329G (*например*, L234A и L235A), как пронумерованы со ссылкой на нумерацию EU), и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:144, 145, 156, 157, 168, 169, 180, 181, 192, 193, 204 и 205. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую последовательность из SEQ ID NO: 144, 145, 156, 157, 168, 169, 180, 181, 192, 193, 204 и 205.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» (*например*, T366S, L368A и Y407V, как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU) и мутации, повышающие стабильность в сыворотке в сыворотки (*например*, M252Y, S254T и T256E, как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU) и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:146, 158, 170, 182, 194 и 206. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую последовательность из SEQ ID NO:146, 158, 170, 182, 194 и 206.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» (*например*, T366S, L368A и Y407V, как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L234A, L235A и/или P329G (*например*, L234A и L235A) как пронумеровано со ссылкой на нумерацию EU) и мутации, повышающие стабильность в сыворотке (*например*, M252Y, S254T и T256E, как пронумерованы со ссылкой на нумерацию EU), и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:147, 148, 159, 160, 171, 172, 183, 184, 195, 196, 207 и 208. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую последовательность из SEQ ID NO: 147, 148, 159, 160, 171, 172, 183, 184, 195, 196, 207 и 208.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, содержит по меньшей мере две, три, четыре, пять, шесть, семь или восемь замен в положениях 345, 346, 347, 349, 437, 438, 439 и 440 в соответствии со схемой нумерации EU. Иллюстративные модифицированные полипептиды Fc представлены в SEQ ID NO:111-115. В некоторых вариантах

осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Gly в положении 437; Phe в положении 438; и/или Asp в положении 440. В некоторых вариантах осуществления Glu присутствует в положении 440. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит по меньшей мере одну замену в следующем положении: Phe или Ile в положении 345; Asp, Glu, Gly, Ala или Lys в положении 346; Tyr, Met, Leu, Ile или Asp в положении 347; Thr или Ala в положении 349; Gly в положении 437; Phe в положении 438; Его Tyr, Ser или Phe в положении 439; или Asp в положении 440. В некоторых вариантах осуществления два, три, четыре, пять, шесть, семь или все восемь положений 345, 346, 347, 349, 437, 438, 439 и 440 имеют замену, как указано в данном абзаце. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc может содержать консервативную замену, *например*, аминокислоту в одной и той же зарядной группировке, гидрофобной группировке, кольцевой группировке боковой цепи (*например*, ароматические аминокислоты) или размерной группировке, и/или полярной или неполярное группирование указанной аминокислоты в одном или более положениях в наборе.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO:111-115. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:111-115. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:111-115. В других вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:111-115, но в которой одна, две или три аминокислоты заменены.

TfR-связывающие полипептиды Fc, содержащие мутации в домене CH2

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, содержит замены в домене CH2. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит домен CH2 Ig человека, такой как домен CH2 IgG, который модифицирован для TfR-связывающей активности. Домен CH2 может относиться к любому подтипу IgG, *то есть* IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В контексте антител IgG домен CH2 относится к сегменту аминокислот от

примерно положения 231 до примерно положения 340, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, связывается с апикальным доменом TfR и может связываться с TfR без блокирования или иного ингибирования связывания трансферрина с TfR. В некоторых вариантах осуществления связывание трансферрина с TfR по существу не ингибируется. В некоторых вариантах осуществления связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем примерно на 50% (*например*, менее чем примерно на 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5%). В некоторых вариантах осуществления связывание трансферрина с TfR ингибируется менее чем примерно на 20% (*например*, менее чем примерно на 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1%).

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, содержит по меньшей мере две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять замен в положениях 274, 276, 283, 285, 286, 287, 288 и 290 в соответствии со схемой нумерации EU. Иллюстративные модифицированные полипептиды Fc представлены в SEQ ID NO:116-120. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Glu в положении 287 и/или Trp в положении 288. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит по меньшей мере одну замену в следующем положении: Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn, Tyr или Trp в положении 274; Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala или Tyr в положении 276; Asp, Pro, Met, Leu, Ala, Asn или Phe в положении 283; Arg, Ser, Ala или Gly в положении 285; Tyr, Trp, Arg или Val в положении 286; Glu в положении 287; Trp или Tyr в положении 288; Gln, Tyr, His, Ile, Phe, Val или Asp в положении 289; или Leu, Trp, Arg, Asn, Tyr или Val в положении 290. В некоторых вариантах осуществления два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или все девять положений 274, 276, 283, 285, 286, 287, 288 и 290 имеют замену, как указано в данном абзаце. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc может содержать консервативную замену, *например*, аминокислоту в одной и той же зарядной группировке, гидрофобной группировке, кольцевой группировке боковой цепи (*например*, ароматические аминокислоты) или размерной группировке, и/или полярной или неполярное группирование указанной аминокислоты в одном или более положениях в наборе.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Glu, Gly, Gln, Ser, Ala, Asn или Tyr в положении 274; Ile, Val, Asp, Glu, Thr, Ala или Tyr в положении 276; Asp, Pro, Met, Leu, Ala или Asn в положении 283; Arg, Ser или

Ala в положении 285; Tyr, Trp, Arg или Val в положении 286; Glu в положении 287; Trp в положении 288; Gln, Tyr, His, Ile, Phe или Val в положении 289; и/или Leu, Trp, Arg, Asn или Tyr в положении 290. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Arg в положении 285; Tyr или Trp в положении 286; Glu в положении 287; Trp в положении 288; и/или Arg или Trp в положении 290.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 1-110 любой из SEQ ID NO:116-120. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:116-120. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:116-120. В других вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:116-120, но в которой одна, две или три аминокислоты заменены.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, содержит по меньшей мере две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в положениях 266, 267, 268, 269, 270, 271, 295, 297, 298 и 299 в соответствии со схемой нумерации EU. Иллюстративные модифицированные полипептиды Fc представлены в SEQ ID NO:121-125. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Pro в положении 270, Glu в положении 295 и/или Tyr в положении 297. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит по меньшей мере одну замену в следующем положении: Pro, Phe, Ala, Met или Asp в положении 266; Gln, Pro, Arg, Lys, Ala, Ile, Leu, Glu, Asp или Tyr в положении 267; Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe, Trp или Leu в положении 268; Pro, Val, Ala, Thr или Asp в положении 269; Pro, Val или Phe в положении 270; Trp, Gln, Thr или Glu в положении 271; Glu, Val, Thr, Leu или Trp в положении 295; Tyr, His, Val или Asp в положении 297; Thr, His, Gln, Arg, Asn или Val в положении 298; или Tyr, Asn, Asp, Ser или Pro в положении 299. В некоторых вариантах осуществления два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или все десять положений 266, 267, 268, 269, 270, 271, 295, 297, 298 и 299 имеют замену, как указано в данном абзаце. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид

Fc может содержать консервативную замену, *например*, аминокислоту в одной и той же зарядной группировке, гидрофобной группировке, кольцевой группировке боковой цепи (*например*, ароматические аминокислоты) или размерной группировке, и/или полярной или неполярное группирование указанной аминокислоты в одном или более положениях в наборе.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Pro, Phe или Ala в положении 266; Gln, Pro, Arg, Lys, Ala или Ile в положении 267; Thr, Ser, Gly, Met, Val, Phe или Trp в положении 268; Pro, Val или Ala в положении 269; Pro в положении 270; Trp или Gln в положении 271; Glu в положении 295; Tyr в положении 297; Thr, His или Gln в положении 298; и/или Tyr, Asn, Asp или Ser в положении 299.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Met в положении 266; Leu или Glu в положении 267; Trp в положении 268; Pro в положении 269; Val в положении 270; Thr в положении 271; Val или Thr в положении 295; His в положении 197; His, Arg или Asn в положении 198; и/или Pro в положении 299.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Asp в положении 266; Asp в положении 267; Leu в положении 268; Thr в положении 269; Phe в положении 270; Gln в положении 271; Val или Leu в положении 295; Val в положении 297; Thr в положении 298; и/или Pro в положении 299.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 1-110 любой из SEQ ID NO:121-125. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:121-125. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:121-125. В других вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:121-125, но в которой одна, две или три аминокислоты заменены.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, содержит по меньшей мере две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в положениях 268, 269, 270, 271, 272,

292, 293, 294 и 300 в соответствии со схемой нумерации EU. Иллюстративные модифицированные полипептиды Fc представлены в SEQ ID NO:126-130. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит по меньшей мере одну замену в следующем положении: Val или Asp в положении 268; Pro, Met или Asp в положении 269; Pro или Trp в положении 270; Arg, Trp, Glu или Thr в положении 271; Met, Tyr или Trp в положении 272; Leu или Trp в положении 292; Thr, Val, Ile или Lys в положении 293; Ser, Lys, Ala или Leu в положении 294; His, Leu или Pro в положении 296; или Val или Trp в положении 300. В некоторых вариантах осуществления два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или все десять положений 268, 269, 270, 271, 272, 292, 293, 294 и 300 имеют замену, как указано в данном абзаце. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc может содержать консервативную замену, *например*, аминокислоту в одной и той же зарядной группировке, гидрофобной группировке, кольцевой группировке боковой цепи (*например*, ароматические аминокислоты) или размерной группировке, и/или полярной или неполярное группирование указанной аминокислоты в одном или более положениях в наборе.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Val в положении 268; Pro в положении 269; Pro в положении 270; Arg или Trp в положении 271; Met в положении 272; Leu в положении 292; Thr в положении 293; Ser в положении 294; His в положении 296; и/или Val в положении 300.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Asp в положении 268; Met или Asp в положении 269; Trp в положении 270; Glu или Thr в положении 271; Tyr или Trp в положении 272; Trp в положении 292; Val, Ile или Lys в положении 293; Lys, Ala или Leu в положении 294; Leu или Pro в положении 296; и/или Trp в положении 300.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 1-110 любой из SEQ ID NO:126-130. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:126-130. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:126-130. В других

вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:126-130, но в которой одна, две или три аминокислоты заменены.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, имеет по меньшей мере две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять замен в положениях 272, 274, 276, 322, 324, 326, 329, 330 и 331 в соответствии со схемой нумерации EU. Иллюстративные модифицированные полипептиды Fc представлены в SEQ ID NO:131-135. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Trp в положении 330. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит по меньшей мере одну замену в следующем положении: Trp, Val, Ile или Ala в положении 272; Trp или Gly в положении 274; Tyr, Arg или Glu в положении 276; Ser, Arg или Gln в положении 322; Val, Ser или Phe в положении 324; Ile, Ser или Trp в положении 326; Trp, Thr, Ser, Arg или Asp в положении 329; Trp в положении 330; или Ser, Lys, Arg или Val в положении 331. В некоторых вариантах осуществления два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или все девять положений 272, 274, 276, 322, 324, 326, 329, 330 и 331 имеют замену, как указано в данном абзаце. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc может содержать консервативную замену, *например*, аминокислоту в одной и той же зарядной группировке, гидрофобной группировке, кольцевой группировке боковой цепи (*например*, ароматические аминокислоты) или размерной группировке, и/или полярной или неполярное группирование указанной аминокислоты в одном или более положениях в наборе.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или девять положений, выбранных из следующего: положение 272 представляет собой Trp, Val, Ile или Ala; положение 274 представляет собой Trp или Gly; положение 276 представляет собой Tyr, Arg или Glu; положение 322 представляет собой Ser, Arg или Gln; положение 324 представляет собой Val, Ser или Phe; положение 326 представляет собой Ile, Ser или Trp; положение 329 представляет собой Trp, Thr, Ser, Arg или Asp; положение 330 представляет собой Trp; а положение 331 представляет собой Ser, Lys, Arg или Val. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит Val или Ile в положении 272; Gly в положении 274; Arg в положении 276; Arg в положении 322; Ser в положении 324; Ser в положении 326; Thr, Ser или Arg в положении 329; Trp в положении 330; и/или Lys или Arg в положении 331.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет

по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 1-110 любой из SEQ ID NO:131-135. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 70% идентичности, по меньшей мере 75% идентичности, по меньшей мере 80% идентичности, по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:131-135. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:131-135. В других вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:131-135, но в которой одна, две или три аминокислоты заменены.

VII. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МУТАЦИИ ПОЛИПЕПТИДА Fc

В некоторых аспектах слитый белок, описанный в данном документе, содержит два полипептида Fc, каждый из которых может содержать независимо выбранные модификации или может представлять собой полипептид Fc дикого типа, *например*, полипептид Fc IgG1 человека. В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc содержат одну или более модификаций, которые обеспечивают связывание с рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), *например*, рецептором трансферрина (TfR). Неограничивающие примеры других мутаций, которые могут быть введены в один или оба полипептида Fc, включают, *например*, мутации для повышения стабильности в сыворотке, для модуляции эффекторной функции, для воздействия на гликозилирование, для снижения иммуногенности у людей и/или для обеспечения гетеродимеризации типов «выступа» и «впадины» полипептидов Fc.

В некоторых вариантах осуществления полипептиды Fc, присутствующие в слитом белке, независимо имеют идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере около 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99 % к соответствующему полипептиду Fc дикого типа (*например*, полипептиду Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека).

В некоторых вариантах осуществления полипептиды Fc, присутствующие в слитом белке, включают мутации типа «выступа» и «впадины», что способствует образованию гетеродимера и препятствует образованию гомодимера. Как правило, модификации вводят выпуклость («выступ») на границе раздела первого полипептида и соответствующую полость («впадину») на границе раздела второго полипептида, так что

выпуклость может быть расположена в полости так, что это способствует образованию гетеродимера и, таким образом, препятствует образованию гомодимера. Выпуклости образуются путем замены небольших боковых цепей аминокислот на границе раздела первого полипептида на более крупные боковые цепи (*например*, тирозин или триптофан). Компенсирующие полости идентичного или подобного размера выпуклостям создаются на границе раздела второго полипептида путем замены больших боковых цепей аминокислот на более мелкие (*например*, аланин или треонин). В некоторых вариантах осуществления такие дополнительные мутации находятся в положении полипептида Fc, которое не оказывает отрицательного влияния на связывание полипептида с рецептором ГЭБ, *например*, TfR.

В одном иллюстративном варианте осуществления подхода «выступ и впадина» для димеризации положения 366 (пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU) одного из полипептидов Fc, присутствующих в слитом белке, содержит триптофан вместо природного треонина. Другой полипептид Fc в димере имеет валин в положении 407 (пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU) вместо нативного тирозина. Другой полипептид Fc может дополнительно содержать замену, при которой нативный треонин в положении 366 (пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EC) заменен серином, а нативный лейцин в положении 368 (пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU) заменен на аланин. Таким образом, один из полипептидов Fc слитого белка, описанного в данном документе, имеет мутацию типа «выступа» T366W, а другой полипептид Fc имеет мутацию Y407V, которая обычно сопровождается мутациями типа «впадины» T366S и L368A.

В некоторых вариантах осуществления могут быть внесены модификации для увеличения периода полужизни в сыворотке. Например, в некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc, присутствующие в слитом белке, описанном в настоящем документе, могут содержать тирозин в положении 252, треонин в положении 254 и глутаминовую кислоту в положении 256, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU. Таким образом, один или оба полипептида Fc могут иметь замены M252Y, S254T и T256E. Альтернативно, один или оба полипептида Fc могут иметь замены M428L и N434S, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU. Альтернативно, один или оба полипептида Fc могут иметь замену N434S или N434A.

В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc, присутствующие в слитом белке, описанном в данном документе, могут содержать модификации, которые снижают эффекторную функцию, *т.е.* обладают пониженной способностью индуцировать определенные биологические функции при связывании с

рецептором Fc, экспрессируемым на эффекторной клетке, которая опосредует эффекторную функцию. Примеры эффекторных функций антитела включают, но не ограничиваются ими, связывание C1q и комплемент-зависимую цитотоксичность (КЗЦ), связывание рецептора Fc; антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (АЗКЦ), антителозависимый клеточно-опосредованный фагоцитоз (АЗКФ), понижающую регуляцию рецепторов клеточной поверхности (*например*, рецептора В-клеток) и активацию В-клеток. Эффекторные функции могут варьироваться в зависимости от класса антител. Например, нативные антитела IgG1 и IgG3 человека могут вызывать активности АЗКЦ и КЗЦ при связывании с подходящим рецептором Fc, присутствующим в клетке иммунной системы; а нативные IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека могут вызывать функции АЗКФ при связывании с подходящим рецептором Fc, присутствующим на иммунной клетке.

В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc, присутствующие в слитом белке, описанном в данном документе, также могут быть сконструированы с возможностью содержания других модификаций для гетеродимеризации, *например*, электростатической инженерии контактных остатков на границе раздела CH3-CH3, которые являются естественно заряженными или модификаций гидрофобных пэтчей.

В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc, присутствующие в слитом белке, описанном в данном документе, могут включать дополнительные модификации, которые модулируют эффекторную функцию.

В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc, присутствующие в слитом белке, описанном в данном документе, могут содержать модификации, которые снижают или устраняют эффекторную функцию. Иллюстративные мутации полипептида Fc, снижающие эффекторную функцию, включают, но не ограничиваются ими, замены в домене CH2, *например*, в положениях 234 и 235, в соответствии со схемой нумерации EU. Например, в некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc могут содержать остатки аланина в положениях 234 и 235. Таким образом, один или оба полипептида Fc могут иметь замены L234A и L235A (LALA).

Дополнительные мутации полипептида Fc, которые модулируют эффекторную функцию, включают, но не ограничиваются ими, следующее: положение 329 может иметь мутацию, в которой пролин заменен глицином или аргинином или аминокислотным остатком, достаточно большим для разрушения границы раздела рецептора Fc/Fc $\square$, который образуется между пролином 329 из Fc и остатками триптофана Trp 87 и Trp 110

из Fc $\square$ RIII. Дополнительные иллюстративные замены включают S228P, E233P, L235E, N297A, N297D и P331S в соответствии со схемой нумерации EU. Также могут присутствовать множественные замены, *например*, L234A и L235A области Fc IgG1 человека; L234A, L235A и P329G области Fc IgG1 человека; S228P и L235E области Fc IgG4 человека; L234A и G237A области Fc IgG1 человека; L234A, L235A и G237A области Fc IgG1 человека; V234A и G237A области Fc IgG2 человека; L235A, G237A и E318A области Fc IgG4 человека; и S228P и L236E области Fc IgG4 человека в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления один или оба полипептида Fc могут иметь одну или более аминокислотных замен, которые модулируют АКЗЦ, *например*, замены в положениях 298, 333 и/или 334, в соответствии со схемой нумерации EU.

Иллюстративные полипептиды Fc, содержащие дополнительные мутации

В качестве неограничивающего примера, один или оба полипептида Fc, присутствующие в слитом белке, описанном в данном документе, могут содержать дополнительные мутации, включая мутацию типа «выступа» (*например*, T366W, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), мутации по типу «впадины» (*например*, T366S, L368A и Y407V, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L234A, L235A и/или P329G (*например*, L234A и L235A), как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), и/или мутации, повышающие стабильность в сыворотке (*например*, M252Y, S254T и T256E, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU).

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc может иметь мутацию типа «выступа» (*например*, T366W, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий любую последовательность из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутацию по типу «выступа».

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc может иметь мутацию типа «выступа» (*например*, T366W, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L234A, L235A и/или P329G (*например*, L234A и L235A), как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из

SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий любую последовательность из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутацию типа «выступа» и мутации, которые модулируют эффекторную функцию.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc может иметь мутацию типа «выступа» (*например*, T366W, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), мутации, которые повышающие стабильность в сыворотке (*например*, M252Y, S254T и T256E, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий любую последовательность из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутацию типа «выступа» и мутации, повышающие стабильность в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc может иметь мутацию типа «выступа» (*например*, T366W, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L234A, L235A и/или P329G (*например*, L234A и L235A), как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), мутации, повышающие стабильность сыворотке (*например*, M252Y, S254T и T256E, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий любую последовательность из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутацию типа «выступа», мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и мутации, повышающие стабильность в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc может иметь мутации типа «впадины» (*например*, T366S, L368A и Y407V, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU) и идентичность по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий любую последовательность из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135, может быть модифицирован таким образом, чтобы оно имел мутации по типу «впадины».

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc может иметь мутации типа «впадины» (*например*, T366S, L368A и Y407V, как пронумеровано в соответствии со

схемой нумерации EU), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L234A, L235A и/или P329G (*например*, L234A и L235A), как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий любую последовательность из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутацию типа «впадины» и мутации, которые модулируют эффекторную функцию.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc может иметь мутации типа «впадины» (*например*, T366S, L368A и Y407V, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), мутации, повышающие стабильность в сыворотке (*например*, M252Y, S254T и T256E, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU) и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий любую последовательность из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутации типа «впадины» и мутации, повышающие стабильность в сыворотке.

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc может иметь мутации типа «впадины» (*например*, T366S, L368A и Y407V, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), мутации, которые модулируют эффекторную функцию (*например*, L234A, L235A и/или P329G (*например*, L234A и L235A), как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), мутации, повышающие стабильность сыворотке (*например*, M252Y, S254T и T256E, как пронумеровано в соответствии со схемой нумерации EU), и по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с последовательностью любой из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc, имеющий любую последовательность из SEQ ID NO:1, 4-90 и 111-135, может быть модифицирован таким образом, чтобы он имел мутацию типа «впадины», мутации, которые модулируют эффекторную функцию, и мутации, повышающие стабильность в сыворотке.

VIII. ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ СЛИТЫЕ БЕЛКИ, СОДЕРЖАЩИЕ ПОЛИПЕПТИД ПРОГРАНУЛИНА

В некоторых аспектах слитый белок, описанный в настоящем документе, включает первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина или его вариантом;

и второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc не включает последовательность вариабельной области тяжелой и/или легкой цепи иммуноглобулина или ее антигенсвязывающую часть. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc представляет собой модифицированный полипептид Fc и/или второй полипептид Fc представляет собой модифицированный полипептид Fc. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc представляет собой модифицированный полипептид Fc. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит одну или более модификаций, которые способствуют его гетеродимеризации с другим полипептидом Fc. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит одну или более модификаций, снижающих эффекторную функцию. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит одну или более модификаций, которые увеличивают период полужизни в сыворотке. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит одну или более модификаций, которые обеспечивают связывание с рецептором гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), *например*, рецептором трансферрина (TfR).

В других аспектах, слитый белок, описанный в данном документе, содержит первую полипептидную цепь, которая содержит модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с рецептором ГЭБ, *например*, TfR, и вторую полипептидную цепь, которая содержит полипептид Fc, который димеризуется с модифицированным полипептидом Fc с образованием димера Fc. Полипептид програнулина может быть связан либо с первой, либо со второй полипептидной цепью. В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина связан со второй полипептидной цепью. В некоторых вариантах осуществления белок содержит два полипептида програнулина, каждый из которых связан с одной из полипептидных цепей. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc может представлять собой полипептид, связывающийся с рецептором ГЭБ, который специфически связывается с тем же рецептором ГЭБ, что и модифицированный полипептид Fc в первой полипептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc специфически не связывается с рецептором ГЭБ.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок, описанный в данном документе, содержит первую полипептидную цепь, содержащую модифицированный полипептид Fc, который специфически связывается с TfR, и вторую полипептидную цепь, которая содержит полипептид Fc, где модифицированный полипептид Fc и полипептид Fc

димеризуются с образованием димера Fc. В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина связан с первой полипептидной цепью. В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина связан со второй полипептидной цепью. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc специфически не связывается с рецептором ГЭБ, *например*, TfR.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок, описанный в данном документе, содержит первую полипептидную цепь, которая содержит модифицированный полипептид Fc, который связывается с TfR и содержит замену T366W (типа «выступа»); и вторую полипептидную цепь, которая содержит полипептид Fc, содержащий замены T366S, L368A и Y407V (типа «впадины»). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc и/или полипептид Fc дополнительно содержит замены L234A и L235A (LALA). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc и/или полипептид Fc дополнительно содержит замены M252Y, S254T и T256E (YTE). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc и/или полипептид Fc дополнительно содержит замены L234A и L235A (LALA) и замены M252Y, S254T и T256E (YTE). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc и/или полипептид Fc содержит остатки IgG1 человека дикого типа в положениях 234, 235, 252, 254, 256 и 366.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутации типа «выступа», LALA и YTE, как указано для любой из SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 и 197-202 и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с соответствующей последовательностью; или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 и 197-202. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc содержит мутации типа «впадины», мутации LALA и YTE, как указано для любой из SEQ ID NO: 97-100, и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с соответствующей последовательностью; или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:97-100. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую из SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 и 197-202, а полипептид Fc содержит любую из SEQ ID NO:97-100. В некоторых вариантах осуществления N-конец модифицированного полипептида Fc и/или полипептида Fc включает часть шарнирной области IgG1 (*например*, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%

или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:110, 209 и 210 или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:110, 209 и 210.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок, описанный в данном документе, содержит первую полипептидную цепь, которая содержит модифицированный полипептид Fc, который связывается с TfR и содержит замены T366S, L368A и Y407V (типа «впадины»); и вторую полипептидную цепь, которая содержит полипептид Fc, содержащий замену T366W (типа «выступа»). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc и/или полипептид Fc дополнительно содержит замены L234A и L235A (LALA). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc и/или полипептид Fc дополнительно содержит замены M252Y, S254T и T256E (YTE). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc и/или полипептид Fc дополнительно содержит замены L234A и L235A (LALA) и замены M252Y, S254T и T256E (YTE). В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc и/или полипептид Fc содержит остатки IgG1 человека дикого типа в положениях 234, 235, 252, 254, 256 и 366.

В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит мутации типа «впадины», LALA и YTE, как указано для любой из SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 и 203-208 и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с соответствующей последовательностью; или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 и 203-208. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc содержит мутации типа «выступа», мутации LALA и YTE, как указано для любой из SEQ ID NO: 105-108, и имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с соответствующей последовательностью; или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:105-108. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc содержит любую из SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 и 203-208, а полипептид Fc содержит любую из SEQ ID NO:105-108. В некоторых вариантах осуществления N-конец модифицированного полипептида Fc и/или полипептида Fc включает часть шарнирной области IgG1 (*например*, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109).

В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина, присутствующий в слитом белке, описанном в данном документе, связан с полипептидной цепью, которая содержит полипептид Fc, имеющий по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:97-100, или

содержит любую последовательность из SEQ ID NO:97-100 (*например*, в виде слитого полипептида). В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина связан с полипептидом Fc линкером, таким как гибкий линкер, и/или шарнирной областью или ее частью (*например*, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит модифицированный полипептид Fc, имеющий по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 и 197-202, или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 и 197-202. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида Fc и/или модифицированного полипептида Fc включает часть шарнирной области IgG1 (*например*, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина содержит последовательность, имеющую более 90% или по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:212, или содержит последовательность SEQ ID NO:212. В некоторых вариантах осуществления модифицированный полипептид Fc имеет по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:110, 209 и 210 или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:110, 209 и 210.

В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина, присутствующий в слитом белке, описанном в данном документе, связан с полипептидной цепью, которая содержит полипептид Fc, имеющий по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:105-108, или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:105-108 (*например*, в виде слитого полипептида). В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина связан с полипептидом Fc линкером, таким как гибкий линкер, и/или шарнирной областью или ее частью (*например*, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина содержит последовательность, имеющую более 90% или по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:212, или содержит последовательность SEQ ID NO:212. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит модифицированный полипептид Fc, имеющий по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 и 203-208, или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 и 203-208. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида Fc и/или модифицированного полипептида Fc включает часть шарнирной области IgG1 (*например*, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109).

В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина, присутствующий в слитом белке, описанном в данном документе, связан с полипептидной цепью, которая содержит модифицированный полипептид Fc, имеющий по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 и 197-202, или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:93-96, 136, 137-142, 149-154, 161-166, 173-178, 185-190 и 197-202 (*например*, в виде слитого полипептида). В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина связан с модифицированным полипептидом Fc линкером, таким как гибкий линкер, и/или шарнирной областью или ее частью (*например*, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина содержит последовательность, имеющую более 90% или по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:212, или содержит последовательность SEQ ID NO:212. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит полипептид Fc, имеющий по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:97-100, 149 и 150, или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:97-100, 149 и 150. В некоторых вариантах осуществления N-конец модифицированного полипептида Fc и/или полипептида Fc включает часть шарнирной области IgG1 (*например*, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109).

В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина, присутствующий в слитом белке, описанном в данном документе, связан с полипептидной цепью, которая содержит модифицированный полипептид Fc, имеющий по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 и 203-208, или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:101-104, 143-148, 155-160, 167-172, 179-184, 191-196 и 203-208 (*например*, в виде слитого полипептида). В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина связан с модифицированным полипептидом Fc линкером, таким как гибкий линкер, и/или шарнирной областью или ее частью (*например*, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина содержит последовательность, имеющую более 90% или по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:212, или содержит последовательность SEQ ID NO:212. В некоторых вариантах осуществления слитый белок содержит полипептид Fc, имеющий по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% идентичности с любой из SEQ ID NO:105-108, или содержит любую последовательность из SEQ ID NO:105-108. В некоторых вариантах осуществления N-конец модифицированного полипептида Fc и/или полипептида Fc включает часть шарнирной области IgG1

(например, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109).

Слитые белки димер Fc:PGRN

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (например, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (например, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:213, 214, 225 или 226, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:261.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (например, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а также мутации L234A и L235A (LALA) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (например, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100%

идентичности с последовательностью SEQ ID NO:215, 216, 227 или 228, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:261.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а также мутации L234A, L235A и P329G (LALAPG) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:217, 218, 229 или 230, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:261.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или

ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:219, 220, 231 или 232, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:261.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, мутации L234A и L235A (LALA), а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:221, 222, 233 или 234, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:261.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, мутации L234A, L235A и P329G (LALAPG), а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В

некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:223, 224, 235 или 236, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:261.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, а также мутации L234A и L235A (LALA) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:213, 214, 225 или 226, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:262.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, а также мутации L234A, L235A и P329G

(LALAPG) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (а) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:213, 214, 225 или 226, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:263.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (а) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (а) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:213, 214, 225 или 226, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:264.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (а) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS

(SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, а также мутации L234A и L235A (LALA), и мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:213, 214, 225 или 226, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:265.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, а также мутации L234A, L235A и P329G (LALAPG), и мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:213, 214, 225 или 226, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:266.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а также мутации L234A и L235A (LALA) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, а также мутации L234A и L235A (LALA) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:215, 216, 227 или 228, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:262. В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc: PGRN содержит: (a) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:215, и (b) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:210. В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc: PGRN содержит: (a) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:227, и (b) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:210. В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc: PGRN содержит: (a) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:215, и (b) последовательность, которая имеет по

меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:291. В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc: PGRN содержит: (a) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:227, и (b) последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:291.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а также мутации L234A, L235A и P329G (LALAPG) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, а также мутации L234A, L235A и P329G (LALAPG) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:217, 218, 229 или 230, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:263.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU. В

некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:219, 220, 231 или 232, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:264.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а также мутации L234A и L235A (LALA) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W и M428L, а также мутации N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:215, 216, 227 или 228, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:264.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S,

L368A и Y407V, а также мутации L234A, L235A и P329G (LALAPG) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:217, 218, 229 или 230, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:264.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W и L234A, а также мутации L235A (LALA) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:219, 220, 231 или 232, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:262.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a)

первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, а также мутации L234A, L235A и P329G (LALAPG) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:219, 220, 231 или 232, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:263.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, мутации L234A и L235A (LALA), а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, L234A и L235A (LALA), а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:221, 222, 233 или 234, и (b) содержит

последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:265.

В одном варианте осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (a) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, мутации L234A, L235A и P329G (LALAPG), а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W, L234A, L235A, мутации P329G (LALAPG), а также мутации M428L и N434S (LS) в соответствии со схемой нумерации EU. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:223, 224, 235 или 236, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:266.

В любом из вариантов осуществления, описанных выше, слитый белок димер Fc:PGRN может содержать первый полипептид Fc, имеющий мутацию типа «выступа» T366W, и второй полипептид Fc, имеющий мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, в котором первый полипептид Fc связан с полипептидом програнулина напрямую или через полипептидный линкер.

В любом из вариантов осуществления, описанных выше, полипептид програнулина также может быть связан со вторым полипептидом Fc с созданием слитого белка димер Fc:PGRN, содержащего два полипептида програнулина. Например, С-конец первого и второго полипептидов програнулина может быть связан с N-концом первого и второго полипептидов Fc, соответственно, напрямую или через полипептидный линкер. В другом примере N-конец первого и второго полипептидов програнулина может быть связан с С-концом первого и второго полипептидов Fc, соответственно, напрямую или через

полипептидный линкер. В другом примере С-конец первого полипептида програнулина может быть связан с N-концом первого полипептида Fc, а N-конец второго полипептида програнулина может быть связан с С-концом второго полипептида Fc. В другом примере N-конец первого полипептида програнулина может быть связан с С-концом первого полипептида Fc, а С-конец второго полипептида програнулина может быть связан с N-концом второго полипептида Fc. В некоторых вариантах осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит два полипептида програнулина, причем каждый из двух полипептидов програнулина связан с полипептидом Fc через полипептидный линкер, при этом два полипептидных линкера в слитом белке могут быть одинаковыми или разными. Например, каждый из двух полипептидных линкеров может независимо представлять собой линкер Gly₄-Ser (SEQ ID NO:277) или линкер (Gly₄-Ser)₂ (SEQ ID NO: 276).

В любом из вариантов осуществления, описанных выше, первый полипептид Fc или второй полипептид Fc могут содержать TfR-связывающие мутации. В некоторых вариантах осуществления первый полипептид Fc может содержать TfR-связывающие мутации. Первый полипептид Fc может содержать любую последовательность из SEQ ID NO:101, 102, 143-145, 155-157, 167-169, 179-181, 191-193 и 203-205. В некоторых вариантах осуществления второй полипептид Fc может содержать TfR-связывающие мутации. Второй полипептид Fc может содержать любую последовательность из SEQ ID NO:93, 94, 136-139, 149-151, 161-163, 173-175, 185-187 и 197-199. В некоторых вариантах осуществления как первый, так и второй полипептиды Fc могут содержать TfR-связывающие мутации.

В конкретных вариантах осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит: (а) первый полипептид Fc, связанный с полипептидом програнулина непосредственно или через полипептидный линкер (*например*, GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:276) или GGGGS (SEQ ID NO:277)), где первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V в соответствии со схемой нумерации EU, и (b) второй полипептид Fc, содержащий мутацию типа «выступа» T366W в соответствии со схемой нумерации EU и TfR-связывающие мутации. В некоторых вариантах осуществления С-конец полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления N-конец полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc напрямую или через полипептидный линкер. В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может быть дополнительно связан с шарнирной областью IgG1 или ее частью (*например*, SEQ ID NO:91 или 109). В некоторых вариантах осуществления первый и/или второй полипептид Fc может содержать L234A и L235A с мутациями P329G

В определенных вариантах осуществления слитого белка димер Fc:PGRN, (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:215, 216, 227 или 228, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с

В определенных вариантах осуществления слитого белка димер Fc:PGRN, (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:223, 224, 235 или 236, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с

В определенных вариантах осуществления слитого белка димер Fc:PGRN, (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:219, 220, 231 или 232, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с

В определенных вариантах осуществления слитого белка димер Fc:PGRN, (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:215, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ

ID NO:291.

В определенных вариантах осуществления слитого белка димер Fc:PGRN, (a) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:227, и (b) содержит последовательность, которая имеет по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности, по меньшей мере 95% идентичности или 100% идентичности с последовательностью SEQ ID NO:291.

В любом из вариантов осуществления, описанных выше, частичный шарнир (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)) и/или богатый глицином линкер, присутствующий в последовательности любой из SEQ ID NO:209, 210, 213-275 и 281-291 могут быть удалены. В определенных вариантах осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит любую последовательность из SEQ ID NO:209, 210, 213-275 и 281-291 без частичного шарнира и/или богатого глицином линкера. В других вариантах осуществления частичный шарнир, присутствующий в последовательности любой из SEQ ID NO:209, 210, 213-275 и 281-291, может быть заменен полной шарнирной последовательностью (*например*, EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 91)). В любом из вариантов осуществления, описанных выше, частичный шарнир (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)) и/или богатый глицином линкер, присутствующий в последовательности SEQ ID NO:215 или 227, может быть удален. В определенных вариантах осуществления слитый белок димер Fc:PGRN содержит последовательность SEQ ID NO:215 или 227 без частичного шарнира и/или богатого глицином линкера. В других вариантах осуществления частичный шарнир, присутствующий в последовательности SEQ ID NO:215 или 227, может быть заменен полной шарнирной последовательностью (*например*, EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:91)).

IX. СВЯЗЫЮЩИЕ СВОЙСТВА

Слитые белки, описанные в данном документе, могут иметь широкий диапазон аффинностей связывания. Например, в некоторых вариантах осуществления белок имеет аффинность к рецептору гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), *например*, рецептору трансферрина (TfR), в диапазоне от 1 пМ до 10 μ М. В некоторых вариантах осуществления аффинность к TfR составляет от 1 нМ до 5 μ М или от 10 нМ до 1 μ М.

Способы анализа аффинности связывания, кинетики связывания и перекрестной реактивности для анализа связывания с рецептором ГЭБ, *например*, TfR, известны в данной области техники. Данные способы включают, но не ограничиваются ими, твердофазные анализы связывания (*например*, анализ ИФА), иммуноосаждение,

поверхностный плазмонный резонанс (*например*, Biacore™ (GE Healthcare, Пискатауэй, штат Нью-Джерси)), анализы кинетического исключения (*например*, KinExA®), проточную цитометрию, сортировку флуоресцентно-активированных клеток (FACS), биослойную интерферометрию (*например*, Octet® (FortéBio, Inc., Менло-Парк, штат Калифорния)) и анализ методом вестерн-блоттинга. В некоторых вариантах осуществления ИФА используется для определения аффинности связывания и/или перекрестной реактивности. Способы проведения анализов ИФА известны в данной области техники и также описаны в разделе «Примеры» ниже. В некоторых вариантах осуществления изобретения поверхностный плазмонный резонанс (ППР) используется для определения аффинности связывания, кинетики связывания и/или перекрестной реактивности. В некоторых вариантах осуществления тесты кинетического исключения используются для определения аффинности связывания, кинетики связывания и/или перекрестной реактивности. В некоторых вариантах осуществления анализы методом биослойной интерферометрии используются для определения аффинности связывания, кинетики связывания и/или перекрестной реактивности.

Х. СВЯЗЬ МЕЖДУ ПОЛИПЕПТИДАМИ ПРОГРАНУЛИНА И ПОЛИПЕПТИДАМИ Fc

В некоторых вариантах осуществления слитый белок, описанный в данном документе, содержит два полипептида Fc, как описано в данном документе, и один или оба полипептида Fc могут дополнительно содержать частичную или полную шарнирную область. Шарнирная область может принадлежать к любому подклассу или изотипу иммуноглобулинов. Иллюстративный шарнир иммуноглобулина представляет собой шарнирную область IgG, такую как шарнирная область IgG1, *например*, шарнирная аминокислотная последовательность IgG1 человека EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:91) или ее часть (*например*, DKTHTCPPCP; SEQ ID NO:109). В некоторых вариантах осуществления шарнирная область находится в N-концевой области полипептида Fc.

В некоторых вариантах осуществления частичный шарнир (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)), присутствующий в последовательности любой из SEQ ID NO:213-275, может быть удален. В других вариантах осуществления частичный шарнир (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)), присутствующий в последовательности любой из SEQ ID NO:213-275, может быть заменен полным шарниром (EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:91)). В некоторых вариантах осуществления частичный шарнир (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)), присутствующий в последовательности SEQ ID NO:215 или 227, может быть удален. В других вариантах осуществления частичный шарнир (DKTHTCPPCP (SEQ ID NO:109)), присутствующий в последовательности SEQ ID NO:215 или 227, может быть

заменен полным шарниром (EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 91)).

В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc присоединен к полипептиду програнулина линкером, *например*, полипептидным линкером. В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc соединен с полипептидом програнулина пептидной связью или полипептидным линкером, *например*, представляет собой слитый полипептид. Полипептидный линкер может быть сконфигурирован таким образом, чтобы он позволял вращение полипептида програнулина относительно полипептида Fc, к которому он присоединен; и/или был устойчив к перевариванию протеазами. Полипептидные линкеры могут содержать природные аминокислоты, неприродные аминокислоты или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер может представлять собой гибкий линкер, *например*, содержащий аминокислоты, такие как Gly, Asn, Ser, Thr, Ala и т. п. Такие линкеры конструируют с использованием известных параметров, могут иметь любую длину и содержать любое количество повторяющихся единиц любой длины (*например*, повторяющиеся единицы остатков Gly и Ser). Например, линкер может иметь повторы, такие как два, три, четыре, пять или более повторов Gly₄-Ser или один Gly₄-Ser. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер может включать сайт расщепления протеазой, *например*, который является расщепляемым ферментом, присутствующим в центральной нервной системе.

В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина присоединен к N-концу полипептида Fc, *например*, линкером Gly₄-Ser (SEQ ID NO:277) или линкером (Gly₄-Ser)₂ (SEQ ID NO:276). В некоторых вариантах осуществления полипептид Fc может содержать шарнирную последовательность или частичную шарнирную последовательность на N-конце, которая присоединена к линкеру или непосредственно присоединена к полипептиду програнулина.

В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина присоединен к C-концу полипептида Fc, *например*, линкером Gly₄-Ser (SEQ ID NO:277) или линкером (Gly₄-Ser)₂ (SEQ ID NO:276). В некоторых вариантах осуществления C-конец полипептида Fc непосредственно присоединен к полипептиду програнулина.

В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер между полипептидом Fc и полипептидом програнулина может иметь 3-200 (*например*, 3-180, 3-160, 3-140, 3-120, 3-100, 3-80, 3-60, 3-40, 3-20, 3-10, 3-5, 5-200, 10-200, 20-200, 40-200, 60-200, 80-200, 100-200, 120-200, 140-200, 160-200, 180-200, 3, 5, 7, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 или 200) аминокислот. Подходящие полипептидные линкеры известны в данной области техники (*например*, как описано в Chen *et al. Adv. Drug Deliv Rev.* 65(10):1357-1369, 2013), и включают, например,

полипептидные линкеры, содержащие гибкие аминокислотные остатки, такие как глицин и серин. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер может представлять собой полиглициновый линкер, *например*, $(\text{Gly})_n$, где n является целым числом от 1 до 10. В некоторых вариантах осуществления полипептидный линкер может содержать мотивы, *например*, множественные или повторяющиеся мотивы из $(\text{GS})_n$, $(\text{GGS})_n$, $(\text{GGGGS (SEQ ID NO:277)})_n$, $(\text{GGSG (SEQ ID NO:304)})_n$ или $(\text{SGGG (SEQ ID NO:305)})_n$, где n является целым числом от 1 до 10. В других вариантах осуществления полипептидный линкер может также содержать аминокислоты, отличные от глицина и серина, *например*, $\text{KESGVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO:306)}$, $\text{EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO:307)}$ и $\text{GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO:308)}$. В других вариантах осуществления полипептидные линкеры также могут быть жесткими полипептидными линкерами. В некоторых вариантах осуществления жесткие полипептидные линкеры могут принимать α -спиральную конформацию, которая может быть стабилизирована за счет внутрисегментных водородных связей и/или внутрисегментных солевых мостиков. Примеры жестких полипептидных линкеров включают, но не ограничиваются ими, $\text{A (EAAAK)}_n\text{A (SEQ ID NO:309)}$, где n является целым числом от 2 до 5, и $(\text{XP})_n$, где X представляет собой Ala, Lys, или Glu, а n является целым числом от 1 до 10, как описано в Chen *et al. Adv. Drug Deliv Rev.* 65(10):1357-1369, 2013.

В некоторых вариантах осуществления полипептид програнулина присоединен к полипептиду Fc с помощью химического перекрестно сшивающего агента. Такие конъюгаты могут быть получены с использованием хорошо известных химических перекрестно сшивающих реагентов и протоколов. Например, существует большое количество химических перекрестно сшивающих агентов, которые известны специалистам в данной области техники и могут быть использованы для перекрестного сшивания полипептида с представляющим интерес агентом. Например, перекрестно сшивающие агенты представляют собой гетеробифункциональные перекрестно сшивающие агенты, которые можно использовать для поэтапного связывания молекул. Гетеробифункциональные перекрестно сшивающие агенты обеспечивают возможность разработки более специфических способов связывания для конъюгирования белков, тем самым снижая вероятность возникновения нежелательных побочных реакций, таких как гомопротеиновые полимеры. В данной области техники известно большое количество гетеробифункциональных перекрестно сшивающих агентов, включая N-гидроксисукцинимид (NHS) или его водорастворимый аналог N-гидроксисульфосукцинимид (сульфо-NHS), сукцинимидил 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат(SMCC), сложный эфир м-

малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимид (MBS); N-сукцинимидил(4-иодацетил)аминобензоат (SIAB), сукцинимидил-4-(п-малеимидофенил)бутират (SMPB), 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид гидрохлорид (EDC); 4-сукцинимидилоксикарбонил-α-метил-α-(2-пиридилдитио)толуол (SMPT), N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионат (SPDP) и сукцинимидил-6-[3-(2-пиридилдитио)пропионат]гексаноат (LC-SPDP). Данные перекрестно сшивающие агенты, содержащие N-гидроксисукцинимидные фрагменты, могут быть получены в виде аналогов N-гидроксисульфосукцинимидов, которые, как правило, обладают большей растворимостью в воде. Кроме того, данные перекрестно сшивающие агенты, имеющие дисульфидные мостики в сшивающей цепи, могут быть синтезированы вместо этого в виде производных алкила в целях уменьшения степени расщепления линкера *in vivo*. Помимо гетеробифункциональных перекрестно сшивающих агентов, существует ряд других перекрестно сшивающих агентов, включая гомобифункциональные и фотореактивные перекрестно сшивающие агенты. Дисукцинимидилсуберат (DSS), бисмалеимидогексан (BMH) и диметилпимелимидат·2HCl (DMP) являются примерами применимых гомобифункциональных перекрестно сшивающих агентов, а бис-[B-(4-азидосалициламидо)этил]дисульфид (BASED) и N-сукцинимидил-6(4'-азидо-2'-нитрофениламино)гексаноат (SANPAH) являются примерами применимых фотореактивных перекрестно сшивающих агентов.

XI. ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ СЛИТЫХ БЕЛКОВ

Активность слитых белков, описанных в данном документе, которые содержат полипептид програнулина или его вариант, можно оценить с помощью различных анализов, включая анализы, которые измеряют активность *in vitro* или *in vivo*. Как описано в примерах, клеточное поглощение слитых белков, описанных в данном документе, можно анализировать с использованием макрофагов из костного мозга (BMDM), и иммуноокрашивания антителами против програнулина человека и Fc человека. Активность протеолиза клеток после обработки клеток слитыми белками, описанными в данном документе, может быть измерена с использованием анализа DQ-BSA, описанного в примере 4. Клеточные эффекты, вызванные мутацией *GRN* (например, повышенная активность катепсина D и повышенные уровни мРНК лизосомных генов, таких как *Ctsl*, *Tmem106b* и *Psap*) можно снова оценить после обработки клеток описанными в данном документе слитыми белками (примеры 6 и 7). В этих анализах можно использовать флуоресцентные зонды и методы кПЦР. Наконец, фармакокинетические свойства и поглощение головным мозгом слитых белков, описанных в данном документе, можно определить с использованием мышей дикого типа

и/или трансгенных мышей, как показано в примерах 9 и 10.

Для клеточных образцов анализ может включать разрушение клеток и вскрытие микровезикул. Разрушение клеток может быть достигнуто с помощью замораживания-размораживания и/или обработки ультразвуком. В некоторых вариантах осуществления оценивают образец ткани. Образец ткани можно оценить с использованием нескольких циклов свободного размораживания, *например*, 2, 3, 4, 5 или более, которые выполняют перед стадией обработки ультразвуком, чтобы обеспечить вскрытие микровезикул.

Образцы, которые можно оценить с помощью описанных в данном документе анализов, включают, *например*, головной мозг, печень, почки, легкие, селезенку, плазму, сыворотку, спинномозговую жидкость (СМЖ) и мочу. В некоторых вариантах осуществления можно оценивать образцы СМЖ от пациента, получающего слитый белок, содержащий полипептид програнулина или его вариант, как описано в данном документе.

ХII. БИС(МОНОАЦИЛГЛИЦЕРО)ФОСФАТ (ВМР)

В данном документе предложены способы мониторинга уровней програнулина (*например*, в образце, в клетке, в ткани и/или у субъекта), причем определение уровня програнулина включает измерение содержания бис(моноацилглицеро)фосфата (ВМР) (*например*, в образце, клетке, ткани и/или у субъекта).

В некоторых вариантах осуществления способов согласно данному раскрытию измеряется численность одного вида ВМР. В некоторых вариантах осуществления измеряется численность двух или более видов ВМР. В некоторых вариантах осуществления измеряется численность по меньшей мере двух, трех, четырех, пяти или более видов ВМР, указанных в таблице 3. При измерении численности двух или более видов ВМР, можно использовать любую комбинацию различных видов ВМР.

В некоторых вариантах осуществления можно суммировать численность более чем одного вида ВМР, и общую численность сравнивать с эталонным значением. Например, численность каждого из 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147 или более видов ВМР (*например*, видов ВМР, перечисленных в таблице 3) можно суммировать, а затем сравнить общую численность с эталонным значением.

В некоторых случаях один или более видов ВМР могут по-разному

экспрессироваться (*например*, более или менее обильно) в одном типе образца по сравнению с другим, таким как, например, образцы на основе клеток (*например*, культивируемых клеток) по сравнению с образцами на основе тканей или крови. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления выбор одного или более видов ВМР (*т. е.* для измерения численности) зависит от типа образца. В некоторых вариантах осуществления один или более видов ВМР включают ВМР(18:1_18:1), *например*, когда образец (*например*, тестируемый образец и/или эталонный образец) представляет собой макрофаг из костного мозга (BMDM). В других вариантах осуществления один или более видов ВМР включают ВМР(22:6_22:6), *например*, когда образец включает ткань (*например*, ткань головного мозга, ткань печени) или плазму, мочу или СМЖ.

В некоторых вариантах осуществления внутренний стандарт ВМР (*например*, ВМР(14:0_14:0)) используется для измерения численности одного или более видов ВМР в образце и/или определения эталонного значения (*например*, измерения численность одного или более видов ВМР в эталонном образце). Например, известное количество внутреннего стандарта ВМР может быть добавлено к образцу (*например*, тестируемому образцу и/или эталонному образцу), чтобы служить точкой калибровки таким образом, что можно определить количество одного или более видов ВМР, присутствующих в образце. В некоторых вариантах осуществления в реагент, используемый для экстракции или выделения ВМР из образца (*например*, метанол), «добавляют» внутренний стандарт ВМР. Как правило, внутренний стандарт ВМР представляет собой стандарт, который не встречается в природе у субъекта.

ХIII. ИДЕНТИФИКАЦИЯ СУБЪЕКТОВ, ИМЕЮЩИХ ИЛИ ПОДВЕРЖЕННЫХ РИСКУ РАЗВИТИЯ ПРОГРАНУЛИН-АССОЦИИРОВАННОГО РАССТРОЙСТВА

В некоторых вариантах осуществления у субъекта (*например*, целевого субъекта) установлено наличие програнулин-ассоциированного расстройства или пониженный уровень програнулина, когда численность по меньшей мере одного (*например*, по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145 или более) видов ВМР (*например*, видов ВМР, перечисленных в таблице 3) в тестируемом образце выше, когда тестируемый образец имеет BMDM, или ниже, когда тестовый образец представляет собой печень, головной мозг, спинномозговую жидкость, плазму или мочу, чем эталонное значение для соответствующей клетки, ткани или жидкости здорового контроля или контроля, не связанного с програнулин-ассоциированным расстройством.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта (*например*, целевого субъекта)

установлено наличие програнулин-ассоциированного расстройства или пониженный уровень програнулина, когда численность по меньшей мере одного (*например*, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или всех 23) видов ВМР, выбранных из группы, состоящей из ВМР(16:0_18:1), ВМР(16:0_18:2), ВМР(18:0_18:0), ВМР(18:0_18:1), ВМР(18:1_18:1), ВМР(16:0_20:3), ВМР(18:1_20:2), ВМР(18:0_20:4), ВМР(16:0_22:5), ВМР(20:4_20:4), ВМР(22:6_22:6), ВМР(20:4_20:5), ВМР(18:2_18:2), ВМР(16:0_20:4), ВМР(18:0_18:2), ВМР(18:0e_22:6), ВМР(18:1e_20:4), ВМР(20:4_22:6), ВМР(18:0e_20:4), ВМР(18:2_20:4), ВМР(18:1_22:6), ВМР(18:1_20:4), ВМР(18:0_22:6) и ВМР(18:3_22:5) повышена в ВМДМ или понижена в печени, головном мозге, спинномозговой жидкости, плазме или моче по сравнению с эталонным значением соответствующей клетки, ткани или жидкости здорового контроля или контроля, не связанного с програнулин-ассоциированным расстройством.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта (*например*, целевого субъекта) установлено наличие програнулин-ассоциированного расстройства или пониженный уровень програнулина, когда численность по меньшей мере одного (*например*, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или всех 8) видов ВМР, выбранных из группы, состоящей из ВМР(18:1_18:1), ВМР(18:0_20:4), ВМР(20:4_20:4), ВМР(22:6_22:6), ВМР(20:4_22:6), ВМР(18:1_22:6), ВМР(18:1_20:4), ВМР(18:0_22:6) и ВМР(18:3_22:5) повышена в ВМДМ или понижена в печени, головном мозге, спинномозговой жидкости, плазме или моче по сравнению с эталонным значением для соответствующей клетки, ткани или жидкости здорового контроля или контроля, не связанного с програнулин-ассоциированным расстройством.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта установлено наличие програнулин-ассоциированного расстройства или пониженный уровень програнулина, когда уровни ВМР(18:1_18:1) повышены в ВМДМ по сравнению с эталонным значением здорового контроля или контроля, не связанного с програнулин-ассоциированным расстройством. В других вариантах осуществления у субъекта установлено наличие програнулин-ассоциированного расстройства или пониженный уровень програнулина, когда ВМР(22:6_22:6) понижен в плазме, моче, спинномозговой жидкости (СМЖ) и/или ткани головного мозга или печени по сравнению с эталонным значением здорового контроля или контроля, не связанного с програнулин-ассоциированным расстройством. В других вариантах осуществления изобретения у субъекта установлено наличие програнулин-ассоциированного расстройства или пониженный уровень програнулина, когда уровни ВМР(22:6_22:6) и/или ВМР(18:3_22:5) понижены в ткани печени. В других вариантах осуществления у субъекта установлено наличие програнулин-ассоциированного расстройства или пониженный уровень програнулина, когда уровни

ВМР(18:3_22:5) понижены в микроглии.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта (*например*, целевого субъекта) установлено наличие програнулин-ассоциированного расстройства или пониженный уровень програнулина, когда численность по меньшей мере одного из видов ВМР (*например*, измеренная в тестируемом образце) по меньшей мере около в 1,1 раза (*например*, около в 1,1 раза, 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 2 раза, 2,5 раза, 3 раза, 3,5 раза, 4 раза, 4,5 раза, 5 раз, 5,5 раза, 6 раз, 6,5 раза, 7 раз, 7,5 раза, 8 раза, 8,5 раза, 9 раз, 9,5 раза, 10 раз или более) выше в ВМДМ или ниже в печени, головном мозге, спинномозговой жидкости, плазме или моче по сравнению с эталонным значением соответствующей клетки, ткани или жидкости здорового контроля или контроля, не связанного с програнулин-ассоциированным расстройством.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта (*например*, целевого субъекта) установлено наличие програнулин-ассоциированного расстройства или пониженный уровень програнулина, когда численность по меньшей мере одного из видов ВМР (*например*, измеренная в тестируемом образце) по меньшей мере около в 1,2-4 раза (*например*, по меньшей мере около в 1,2 раза, 1,3 раза, 1,4 раза, 1,5 раза, 1,6 раза, 1,7 раза, 1,8 раза, 1,9 раза, 2 раза, 2,1 раза, 2,2 раза, 2,3 раза, 2,4 раза, 2,5 раза, 2,6 раза, 2,7 раза, 2,8 раза, 2,9 раза, 3 раза, 3,1 раза, 3,2 раза, 3,3 раза, 3,4 раза, 3,5 раза, 3,6 раза, 3,7 раза, 3,8 раза, 3,9 раза, 4 раза) выше эталонного значения (*например*, соответствующего эталонного значения). В некоторых вариантах осуществления у субъекта установлено наличие програнулин-ассоциированного расстройства или пониженный уровень програнулина, когда численность по меньшей мере одного из видов ВМР около в 2-3 раза (*например*, около в 2 раза, 2,1 раза, 2,2 раза, 2,3 раза, 2,4 раза, 2,5 раза, 2,6 раз, 2,7 раза, 2,8 раз, 2,9 раза, 3 раза) выше в ВМДМ или ниже в печени, головном мозге, спинномозговой жидкости, плазме или моче по сравнению с эталонным значением соответствующей клетки, ткани или жидкости здорового контроля или контроля, не связанного с програнулин-ассоциированным расстройством.

XIV. МОНИТОРИНГ ОТВЕТА НА ЛЕЧЕНИЕ

В одном аспекте данного раскрытия предложены способы мониторинга уровней програнулина у субъекта (*например*, целевого субъекта). В других аспектах предложены способы мониторинга ответа субъекта на соединение, фармацевтическую композицию или схему их дозирования или ответа на любую терапию или терапевтическое средство (*например*, ответа на слитый белок димер Fc:PGRN, описанный в данном документе) для лечения програнулин-ассоциированного расстройства.

Как правило, численность каждого из одного или более видов ВМР в тестируемом

образце сравнивают с одним или более эталонными значениями (*например*, соответствующим эталонным значением). В некоторых вариантах осуществления значение ВМР измеряют до лечения и в один или более моментов времени после лечения. Значение численности, полученное в более поздний момент времени, можно сравнить со значением до лечения, а также с эталонным значением, например, со значением здорового или больного контроля, чтобы определить, как субъект отвечает на терапию. Одно или более эталонных значений могут быть получены из различных клеток, тканей или жидкостей, соответствующих клетке, ткани или жидкости тестируемого образца.

В некоторых вариантах осуществления эталонное значение представляет собой численность одного или более видов ВМР, измеренную в эталонном образце. Эталонное значение может являться измеренным значением численности (*например*, значением численности, измеренным в эталонном образце), либо может быть получено или экстраполировано из измеренного значения численности. В некоторых вариантах осуществления эталонное значение представляет собой диапазон значений, *например*, когда эталонные значения получены из множества образцов или популяции субъектов. Кроме того, эталонное значение может быть представлено как отдельное значение (*например*, измеренное значение численности, среднее значение или медианное значение) или как диапазон значений со стандартным отклонением или стандартной погрешностью или без них.

Когда получены два или более тестируемых образца (*например*, от субъекта), моменты времени, в которые они были получены, могут быть разделены около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 или более минутами; около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или больше часами; около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или более днями; около 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более неделями; или даже большим периодом времени. Когда получают три или более тестируемых образца, все интервалы времени между получением каждого тестируемого образца могут быть одинаковыми, все интервалы могут быть различными или представлять собой их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления как первый тестируемый образец, так и второй тестируемый образец получают от субъекта (*например*, целевого субъекта) после того, как субъект прошел лечение, *т. е.* первый тестируемый образец получают от субъекта на более раннем моменте времени во время лечения, чем второй тестируемый образец. В некоторых вариантах осуществления первый тестируемый образец получают до того, как субъект прошел лечение расстройства, ассоциированного со сниженным

уровнем програнулина (*т. е.* тестируемый образец перед лечением), а второй тестируемый образец получают после того, как субъект прошел лечение расстройства, ассоциированного с пониженным уровнем програнулина (*т. е.* тестируемый образец после лечения). В некоторых вариантах осуществления от субъекта получают более одного (*например*, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более) тестируемого образца до лечения и/или после лечения. Кроме того, количество полученных тестируемых образцов до лечения и после лечения не обязательно должно быть одинаковым.

В некоторых вариантах осуществления может быть определено, что субъект не отвечает на лечение, когда численность измеренных видов ВМР находится в пределах около 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% или 20% от эталонного значения.

Когда субъект (*например*, целевой субъект) не отвечает на лечение (*например*, при расстройстве, ассоциированном с пониженным уровнем програнулина), в некоторых вариантах осуществления дозировка одного или более терапевтических агентов (*например*, програнулина) изменяется (*например*, повышается) и/или изменяется интервал дозирования (*например*, уменьшается время между дозами). В некоторых вариантах осуществления, когда субъект не отвечает на лечение, выбирают другой терапевтический агент. В некоторых вариантах осуществления, когда субъект не отвечает на лечение, прием одного или более терапевтических агентов прекращается.

XV. МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ВМР

В некоторых вариантах осуществления антитела можно использовать для обнаружения и/или измерения численности одного или более видов ВМР. Виды ВМР, связанные с антителом, можно обнаружить, например, с помощью микроскопии или иммуноферментного анализа (ИФА).

В других вариантах осуществления масс-спектрометрия (МС) используется для обнаружения и/или измерения численности одного или более видов ВМР согласно способам настоящего раскрытия. Масс-спектрометрия представляет собой метод, при котором соединения ионизируют, а полученные ионы сортируют по их отношениям массы к заряду (сокращенно m/Q , m/q , m/Z или m/z). Образец (*например*, содержащий молекулу ВМР), который может присутствовать в газовой, жидкой или твердой форме, ионизируют, а образующиеся ионы затем ускоряют электрическим и/или магнитным полем, в результате чего они разделяются по своим отношениям массы к заряду. В конечном итоге ионы попадают в ионный детектор, и генерируется масс-спектрограмма. Отношение массы к заряду обнаруженных ионов вместе с их относительным содержанием можно использовать для идентификации исходного соединения (соединений), иногда путем

сопоставления известных масс (*например*, целых или неповрежденных молекул) с массами обнаруженных ионов и/или путем распознавания профилей, обнаруживаемых на масс-спектрограмме.

Масс-спектрометры обычно включают в себя по меньшей мере четыре основных компонента: (1) устройство ввода пробы (*например*, испаритель), (2) устройство ионизации, (3) ионный путь и (4) детектор ионов. Кроме того, масс-спектрометры обычно содержат устройство, которое преобразует образцы в форму, подходящую для устройства для ввода, и/или разделяет соединения, которые присутствуют в образце, которое в некоторых вариантах осуществления может представлять собой хроматографическое устройство (*например*, для жидкостной или газовой хроматографии) или твердую мишень для матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ) или другой метод, подходящий для твердых образцов. Масс-спектрометры также обычно содержат устройство для обработки сигналов детекторов (*например*, аналого-цифровой преобразователь (АЦП)) и/или программное обеспечение для обработки, анализа и отображения сигналов детектора.

Устройство ввода пробы облегчает переход твердого или жидкого образца в газовую фазу, что требуется для последующей обработки и анализа. В устройстве ионизации может использоваться, например, жесткая ионизация (*например*, электронная ионизация) или мягкая ионизация (*например*, бомбардировка быстрыми атомами (ББА), химическая ионизация (ХИ), ионизация электрораспылением (ИЭР), МАЛДИ или химическая ионизация при атмосферном давлении (ХИАД)). Способы ИЭР включают пропускание раствора через капиллярную трубку, к концу которой прикладывается высокий положительный или отрицательный электрический потенциал. Раствор, достигающий конца трубки, испаряется в струю или распылитель, состоящий из очень маленьких капель раствора в парах растворителя. Эта капельная струя проходит через испарительную камеру, которая слегка нагревается для предотвращения конденсации и испарения растворителя. По мере того, как капли становятся меньше, плотность электрического поверхностного заряда увеличивается до тех пор, пока естественное отталкивание между одинаковыми зарядами не вызовет высвобождение ионов, а также нейтральных молекул.

На ионном пути ионы переходят из среды, близкой к атмосферному давлению, в среду с низким давлением (*например*, высокий вакуум) масс-анализатора, который разделяет ионы в соответствии с их отношением массы к заряду, и перемещаются в детектор ионов. Детектор ионов обычно представляет собой электронный умножитель или микроканальную пластину, которая высвобождает каскад электронов в ответ на удар

иона.

Могут использоваться различные типы масс-анализаторов, примеры которых включают в себя масс-анализаторы секторного поля, времяпролетные (ВП) масс-анализаторы и квадрупольные масс-анализаторы. В масс-анализаторах с секторным полем используется статическое электрическое и/или магнитное поле для изменения пути и/или скорости иона, с эффективным изменением траектории ионов в соответствии с их отношением массы к заряду. Ионы с более высоким зарядом и/или меньшей массой будут отклоняться сильнее, чем ионы с более низким зарядом и/или большей массой. Во ВП масс-анализаторе используется электрическое поле для ускорения ионов до заданного потенциала, и измеряется время, которое требуется иону, чтобы попасть в детектор. Если все ионы имеют одинаковый заряд, то их скорости будут отличаться только в зависимости от их масс, и ионы с меньшими массами первыми попадут в детектор. В квадрупольных масс-анализаторах используется один или более наборов из четырех параллельных стержней (набор из четырех параллельных стержней, известный как квадруполь) для генерации колеблющихся электрических полей, которые стабилизируют или дестабилизируют траектории ионов, когда они проходят через электрическое квадрупольное поле (*например*, радиочастотный (РЧ) квадрупольный файл), который создается между четырьмя стержнями. В частности, только ионы в пределах определенного диапазона отношения массы к заряду могут проходить через масс-анализатор в любой момент времени. Однако, путем изменения потенциалов на стержнях, можно быстро изменить широкий диапазон отношения массы к заряду. Отношение массы к заряду может изменяться либо непрерывно, либо путем задания дискретных скачков.

В отличие от единственной масс-спектрометрии (МС), в которой используется единственный масс-анализатор (*например*, квадрупольный), в tandemной масс-спектрометрии (МС/МС) используется серия масс-анализаторов (*например*, три масс-анализатора) для выполнения нескольких циклов масс-спектрометрии, как правило, с промежуточной стадией фрагментации молекулы. В качестве неограничивающего примера в приборах для МС/МС обычно используются три квадрупольных масс-анализатора. Первый квадруполь (Q1) может действовать как первый массовый фильтр, отделяющий интересующий вид или белок от большей гетерогенной популяции. Вторым квадруполь (Q2) может действовать как камера столкновений, которая стабилизирует ионы, прошедшие через Q1, и может быть заполнена газом низкого давления, с которым ионы сталкиваются, вызывая их фрагментацию (фрагментацию, вызванную столкновением (CID)). Третий квадруполь (Q3) может действовать как второй массовый фильтр, который разделяет фрагменты, произведенные в Q2, и передает их в детектор. В

качестве альтернативы, вместо проведения тандемной масс-спектрометрии в пространстве, тандемную масс-спектрометрию можно проводить с течением времени с использованием одного масс-анализатора, например, когда используется квадрупольная ионная ловушка и поле изменяется с течением времени. Вкратце, квадрупольная ионная ловушка работает на основе тех же физических принципов, что и квадрупольный масс-анализатор, но ионы захватываются внутри квадруполя (*т. е.* электрическое поле изменяется быстрее, чем время, необходимое для выхода ионов) и избирательно выбрасываются с течением времени, изменяя поле, создаваемое квадруполем.

Для фрагментации можно использовать несколько способов, включая, но не ограничиваясь ими, CID, диссоциацию с захватом электрона (ECD), диссоциацию с переносом электрона (ETD), инфракрасную многофотонную диссоциацию (IRMPD), инфракрасную диссоциацию черного тела (BIRD), диссоциацию при отрыве электрона (EDD) и поверхностно-индуцированную диссоциацию (SID).

Тандемные масс-спектрометры могут использоваться для проведения различных типов экспериментов, включая полное сканирование, сканирование ионов продуктов, сканирование ионов-предшественников, сканирование нейтральных потерь и сканирование селективного (или множественного) мониторинга реакции (SRM или MRM). В эксперименте с полным сканированием сканируется весь диапазон масс (или его часть) обоих масс-анализаторов (*например*, Q1 и Q3), а второй масс-анализатор (*например*, Q2) не содержит газа столкновений. Это позволяет обнаружить все ионы, содержащиеся в образце. В эксперименте со сканированием ионов продукта для первого масс-анализатора (*например*, Q1) выбирается конкретное отношение массы к заряду, второй масс-анализатор (*например*, Q2) заполняется газом столкновений, чтобы фрагментировать ионы, имеющие выбранное отношение массы к заряду, а затем сканируется весь диапазон масс (или его часть) третьего масс-анализатора (*например*, Q3). Это позволяет обнаружить все ионы-фрагменты выбранного иона-предшественника. В эксперименте по сканированию ионов-предшественников сканируется весь диапазон масс (или его часть) первого масс-анализатора (*например*, Q1), второй масс-анализатор (*например*, Q2) заполняется газом столкновений, чтобы фрагментировать ионы, попадающие в диапазон сканирования, и для третьего масс-анализатора (*например*, Q3) выбирается конкретное отношение массы к заряду. Путем корреляции времени между обнаружением иона-продукта и конкретным отношением массы к заряду, которое было выбрано непосредственно перед его обнаружением, данный тип эксперимента может позволить пользователю определить, какой ион-предшественник мог образовать представляющий интерес ион-продукт. В эксперименте со сканированием нейтральных потерь весь

диапазон масс (или его часть) первого масс-анализатора (*например*, Q1) сканируется, второй масс-анализатор (*например*, Q2) заполняется газом столкновений для фрагментации всех ионов в пределах диапазон сканирования, а третий масс-анализатор (*например*, Q3) сканирует в заданном диапазоне, который соответствует вызванной фрагментацией потере одной определенной массы, которая произошла для каждого потенциального иона в диапазоне сканирования предшественника. Данный тип экспериментов позволяет идентифицировать все предшественники, которые потеряли в целом интересующую конкретную химическую группу (*например*, метильную группу). В эксперименте MRM для первого масс-анализатора (*например*, Q1) выбирается одно конкретное отношение массы к заряду, второй масс-анализатор (*например*, Q2) заполняется газом столкновений, а третий масс-анализатор (*например*, Q3) устанавливается для другого конкретного отношения массы к заряду. Данный тип эксперимента позволяет выполнять высокоспецифичное обнаружение молекул, которые, как известно, фрагментируются на продукты, выбранные для третьего масс-анализатора. Способы МС и МС/МС описаны далее в Grebe *et al. Clin. Biochem. Rev.* (2011) 32:5-31, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки для всех целей.

Кроме того, методы МС и МС/МС могут быть объединены с методами жидкостной хроматографии (ЖХ) или газовой хроматографии (ГХ). Такие способы как жидкостная хроматография-масс-спектрометрия (ЖХ-МС), жидкостная хроматография-тандемная масс-спектрометрия (ЖХ-МС/МС), газовая хроматография-масс-спектрометрия (ГХ-МС) и газовая хроматография-тандемная масс-спектрометрия (ГХ-МС/МС) позволяют улучшить разрешение по массе и определение массы по сравнению с тем, что обычно возможно при применении только МС или МС/МС.

Жидкостная хроматография относится к процессу, в котором один или более компонентов жидкого раствора выборочно задерживаются, поскольку жидкость равномерно просачивается через колонку с тонкодисперсным веществом или через капиллярные каналы. Замедление является результатом распределения компонентов смеси между одной или более стационарными фазами и основной жидкостью (*т. е.* подвижной фазой), когда жидкость движется относительно неподвижной фазы (фаз). Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), также известная как «жидкостная хроматография высокого давления», представляет собой вариант ЖХ, в котором степень разделения повышается путем пропускания подвижной фазы под давлением через неподвижную фазу, обычно плотно упакованную колонку.

Кроме того, ультравысокоэффективная жидкостная хроматография (УВЭЖХ), также известная как «жидкостная хроматография сверхвысокого давления» или

«ультразвуковая жидкостная хроматография (УЭЖХ)», представляет собой вариант ВЭЖХ, который выполняется с использованием гораздо более высоких давлений, чем традиционные методы ВЭЖХ.

В некоторых вариантах осуществления размер частиц в колонке составляет менее около 2,0 мкм (*например*, около 1,9 мкм, 1,8 мкм, 1,7 мкм, 1,6 мкм, 1,5 мкм или меньше). В некоторых вариантах осуществления размер частиц составляет около 1,7 мкм.

В некоторых вариантах осуществления рабочее давление в колонке составляет от около 400 бар до около 1000 бар (*например*, около 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 или 1000 бар).

В некоторых вариантах осуществления, во время хроматографии температура колонки поддерживается на уровне от около 40°C до около 60°C (*например*, около 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C или 60°C). В некоторых вариантах осуществления в колонке поддерживается температура около 55°C.

В некоторых вариантах осуществления скорость потока через колонку составляет от около 0,10 мл/минуту до около 0,50 мл/минуту (*например*, около 0,10 мл/минуту, 0,11 мл/минуту, 0,12 мл/минуту, 0,13 мл/минуту, 0,14 мл / мин, 0,15 мл/минуту, 0,16 мл/минуту, 0,17 мл/минуту, 0,18 мл/минуту, 0,19 мл/минуту, 0,20 мл/минуту, 0,21 мл/минуту, 0,22 мл/минуту, 0,23 мл/минуту, 0,24 мл/минуту, 0,25 мл/минуту, 0,26 мл/минуту, 0,27 мл/минуту, 0,28 мл/минуту, 0,29 мл/минуту, 0,30 мл/минуту, 0,31 мл/минуту, 0,32 мл/минуту, 0,33 мл/минуту, 0,34 мл/минуту, 0,35 мл/минуту, 0,36 мл/минуту, 0,37 мл/минуту, 0,38 мл/минуту, 0,39 мл/минуту, 0,40 мл/минуту, 0,41 мл/минуту, 0,42 мл/минуту, 0,43 мл/минуту, 0,44 мл/минуту, 0,45 мл/минуту, 0,46 мл/минуту, 0,47 мл/минуту, 0,48 мл/минуту, 0,49 мл/минуту или 0,50 мл/минуту). В некоторых вариантах осуществления скорость потока составляет около 0,40 мл/минуту.

Градиентное элюирование может быть выполнено с использованием двух растворителей (*например*, растворителей А и В). В некоторых вариантах осуществления растворитель А представляет собой 10 мМ формиат аммония + 0,1% муравьиная кислота в воде, а растворитель В представляет собой ацетонитрил с 0,1% муравьиной кислотой. В некоторых вариантах осуществления градиент создается следующим способом: 5% А и 95% В в течение 1 минуты, заменяли на 50% А и 50% В в течение 6 минут, заменяли на 5% А и 95% В в течение 0,1 минуты, затем выдерживали при 5% А и 95% В в течение 4,9 минуты. После разделения соединений методами ЖХ, ВЭЖХ или УВЭЖХ их можно вводить в масс-спектрометр.

Газовая хроматография относится к способу разделения и/или анализа соединений,

которые могут испаряться без разложения. Подвижная фаза представляет собой газ-носитель, который обычно представляет собой инертный газ (*например*, гелий) или инертный газ (*например*, азот), а неподвижная фаза обычно представляет собой микроскопический слой жидкости или полимера, расположенный на инертной твердой подложке внутри стеклянной или металлической трубки, служащей «колоной». Поскольку представляющие интерес газообразные соединения взаимодействуют с неподвижной фазой внутри колонки, они по-разному задерживаются и элюируются из колонки в разные периоды времени. Затем разделенные соединения можно ввести в масс-спектрометр.

В некоторых вариантах осуществления способы на основе антител используются для обнаружения и/или измерения численности одного или более видов ВМР. Неограничивающие примеры подходящих методов включают методы твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), иммунофлуоресценции и радиоиммуноанализа (РИА). Способы проведения ИФА, иммунофлуоресценции и РИА известны в данной области техники.

Любое количество типов образцов может быть использовано в качестве тестируемого образца и/или эталонного образца в способах настоящего раскрытия, при условии, что образец содержит ВМР в количестве, достаточном для обнаружения, чтобы можно было измерить численность. Неограничивающие примеры включают клетки, ткани, кровь (*например*, цельную кровь, плазму, сыворотку), жидкости (*например*, спинномозговую жидкость, мочу, жидкость бронхоальвеолярного лаважа, лимфу, сперму, грудное молоко, амниотическую жидкость), кал, мокроту или любую их комбинацию. Неограничивающие примеры подходящих типов клеток включают макрофаги из костного мозга (BMDM), клетки крови (*например*, мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), эритроциты, лейкоциты), нервные клетки (*например*, клетки головного мозга, клетки коры головного мозга, клетки спинного мозга), клетки костного мозга, клетки печени, клетки почек, клетки селезенки, клетки легких, клетки глаза (*например*, клетки сетчатки, такие как клетки пигментного эпителия сетчатки (RPE)), клетки ворсинок хориона, мышечные клетки, клетки кожи, фибробласты, клетки сердца, клетки лимфатических узлов или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления образец содержит часть клетки. В некоторых вариантах осуществления образец очищают от клетки или ткани. Неограничивающие примеры очищенных образцов включают эндосомы, лизосомы, внеклеточные везикулы (*например*, экзосомы, микровезикулы) и их комбинации.

В некоторых вариантах осуществления образец (*например*, тестируемый образец

и/или эталонный образец) содержит клетку, которая является культивируемой клеткой. Неограничивающие примеры включают BMDM и клетки RPE. BMDM могут быть получены, например, путем получения образца, содержащего МКПК, и культивирования содержащихся в нем моноцитов.

Неограничивающие примеры подходящих типов образцов ткани включают нервную ткань (*например*, ткань головного мозга, ткань коры головного мозга, ткань спинного мозга), ткань печени, ткань почек, мышечную ткань, ткань сердца, ткань глаза (*например*, ткань сетчатки), лимфатические узлы, костный мозг, ткань кожи, ткань кровеносных сосудов, ткань легкого, ткань селезенки, ткань клапана и их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления тестируемый образец и/или эталонный образец содержит ткань головного мозга или ткань печени. В некоторых вариантах осуществления тестируемый и/или эталонный образец содержит плазму.

XVI. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ, ВЕКТОРЫ И КЛЕТКИ-ХОЗЯЕВА

Полипептидные цепи, содержащиеся в слитых белках, как описано в данном документе, как правило, получают с использованием рекомбинантных методов. Соответственно, в некоторых аспектах в раскрытии предложены выделенные нуклеиновые кислоты, содержащие последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любую из полипептидных цепей, содержащих полипептиды Fc, как описано в данном документе, и клетки-хозяева, в которые введены нуклеиновые кислоты, которые используются для репликации кодирующих полипептид нуклеиновых кислоты и/или для экспрессии полипептидов. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин является эукариотической, *например*, клеткой человека.

В другом аспекте предложены полинуклеотиды, которые содержат нуклеотидную последовательность, которая кодирует полипептидные цепи, описанные в данном документе. Полинуклеотиды могут быть одноцепочечными или двухцепочечными. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой ДНК. В конкретных вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой кДНК. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой РНК.

В раскрытии предложена выделенная нуклеиновая кислота, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий любую последовательность из SEQ ID NO:110, 210, 213-215, 225, 227, 261, 273-275, 282, 284, 285 и 291.

В раскрытии предложена выделенная нуклеиновая кислота, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:215.

В раскрытии предложенная выделенная нуклеиновая кислота, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:210.

В раскрытии предложенная выделенная нуклеиновая кислота, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:227.

В раскрытии предложенная выделенная нуклеиновая кислота, содержащая последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:291.

В раскрытии предложены выделенные нуклеиновые кислоты, содержащие (a) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:215, и (b) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:210.

[0460] В раскрытии предложены выделенные нуклеиновые кислоты, содержащие (a) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:227, и (b) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:210.

В раскрытии предложены выделенные нуклеиновые кислоты, содержащие (a) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:215, и (b) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:291.

В раскрытии предложены выделенные нуклеиновые кислоты, содержащие (a) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:227, и (b) последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую полипептид, имеющий последовательность SEQ ID NO:291.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид включен в конструкцию нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления конструкция представляет собой реплицируемый вектор. В некоторых вариантах осуществления вектор выбран из плазмиды, вирусного вектора, фагмиды, дрожжевого хромосомного вектора и неэписомного вектора млекопитающих.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид функционально связан с одной или более регуляторными нуклеотидными последовательностями в конструкции экспрессии. В одной серии вариантов осуществления конструкции экспрессии нуклеиновой кислоты адаптированы для применения в качестве библиотеки поверхностной экспрессии. В некоторых вариантах осуществления библиотека

адаптирована для поверхностной экспрессии в дрожжах. В некоторых вариантах осуществления библиотека адаптирована для поверхностной экспрессии в фаге. В другой серии вариантов осуществления конструкции экспрессии нуклеиновой кислоты адаптированы для экспрессии полипептида в системе, которая позволяет выделять полипептид в количествах, представленных в миллиграммах или граммах. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой систему экспрессии клеток млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой систему экспрессии дрожжевых клеток.

Экспрессионные носители для продукции рекомбинантного полипептида включают плазмиды и другие векторы. Например, подходящие векторы включают плазмиды следующих типов: плазмиды, полученные из pBR322, плазмиды, полученные из pEMBL, плазмиды, полученные из pEX, плазмиды, полученные из pBTac, и плазмиды, полученные из pUC, для экспрессии в прокариотических клетках, таких как *E. coli*. Векторы, полученные из pcDNA1/amp, pcDNA1/neo, pRc/CMV, pSV2gpt, pSV2neo, pSV2-dhfr, pTk2, pRSVneo, pMSG, pSVT7, pko-neo и pHyg, являются примерами экспрессионных векторов млекопитающих, подходящих для трансфекции эукариотических клеток. Альтернативно, производные вирусов, таких как вирус папилломы крупного рогатого скота (BPV-1) или вирус Эпштейна — Барра (pHEBo, производное pREP и p205), могут быть использованы для временной экспрессии полипептидов в эукариотических клетках. В некоторых вариантах осуществления может быть желательно экспрессировать рекомбинантный полипептид с использованием системы экспрессии бакуловирусов. Примеры таких систем экспрессии бакуловирусов включают векторы, производные от pVL (такие как pVL1392, pVL1393 и pVL941), векторы, полученные из pAcUW (такие как pAcUW1), и векторы, полученные из pBlueBac. Дополнительные системы экспрессии включают системы экспрессии аденовирусов, аденоассоциированных вирусов и другие системы экспрессии вирусов.

Векторы можно трансформировать в любую подходящую клетку-хозяин. В некоторых вариантах осуществления клетки-хозяева, *например*, клетки бактерий или дрожжей, могут быть адаптированы для применения в качестве библиотеки поверхностной экспрессии. В некоторых клетках векторы экспрессируются в клетках-хозяевах для экспрессии относительно больших количеств полипептида. Такие клетки-хозяева включают клетки млекопитающих, дрожжевые клетки, клетки насекомых и прокариотические клетки. В некоторых вариантах осуществления клетки представляют собой клетки млекопитающих, такие как клетка яичника китайского хомячка (CHO), клетки почки новорожденного хомяка (BHK), клетка NS0, клетка Y0, клетка HEK293,

клетка COS, клетка Vero или клетка HeLa.

Клетка-хозяин, трансфицированная вектором экспрессии, кодирующим одну или более цепей полипептида Fc, как описано в данном документе, может культивироваться в подходящих условиях для обеспечения возможности экспрессии одного или более полипептидов. Полипептиды можно секретировать и выделять из смеси клеток и среды, содержащей полипептиды. Альтернативно, полипептиды можно удерживать в цитоплазме или в мембранной фракции, клетки собирают, лизируют и полипептид выделяют с использованием желаемого способа.

XVII. ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ

Слитый белок в соответствии с настоящим раскрытием можно использовать в терапевтических целях для лечения програнулин-ассоциированных расстройств (*например*, нейродегенеративного заболевания (*например*, ЛВД, НЦЛ, НПА, НПВ, НПС, C9ORF72-ассоциированного БАС/ЛВД, sporadического БАС, БА, болезни Гоше (*например*, болезни Гоше типов 2 и 3) и болезни Паркинсона), атеросклероза, расстройства, ассоциированного с TDP-43, и ВМД).

Слитый белок, описанный в данном документе, который содержит полипептид програнулина или его вариант, может быть введен субъекту в терапевтически эффективном количестве или дозе. Иллюстративные дозировки включают диапазон доз от около 1 мг/кг до около 100 мг/кг или от около 10 мг/кг до около 50 мг/кг. Однако дозировки могут варьироваться в зависимости от нескольких факторов, включая частоту введения дозы, выбранный путь введения, состав композиции, реакцию пациента, тяжесть состояния, вес субъекта и мнение врача, назначающего препарат. Дозировка может быть увеличена или уменьшена с течением времени, как того требует отдельный пациент. В некоторых вариантах осуществления пациенту сначала вводят низкую дозу, которая затем увеличивается до эффективной дозировки, приемлемой для пациента.

В различных вариантах осуществления описанный в данном документе слитый белок вводят парентерально. В некоторых вариантах осуществления белок вводят внутривенно. Внутривенное введение может осуществляться путем инфузии, *например*, в течение периода от около 10 до около 30 минут или в течение периода, составляющего по меньшей мере 1 час, 2 часа или 3 часа. В некоторых вариантах осуществления белок вводят внутривенно болюсно. Также могут использоваться комбинации инфузии и болюсного введения.

В некоторых вариантах осуществления для парентерального введения слитый белок вводят внутрибрюшинно, подкожно, внутрикочно или внутримышечно. В некоторых вариантах осуществления белок вводят внутрикочно или внутримышечно. В

некоторых вариантах осуществления белок вводят интратекально, например, путем эпидурального введения или интрацеребровентрикулярно.

В других вариантах осуществления слитый белок можно вводить перорально, путем легочного введения, интраназального введения, внутриглазного введения или путем местного применения. Также можно использовать легочное введение, *например*, с помощью ингалятора или распылителя и состава в виде аэрозольного агента.

XVIII. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ И НАБОРЫ

В других аспектах предложены фармацевтические композиции и наборы, содержащие слитый белок в соответствии с раскрытием.

Фармацевтические композиции

Руководство по приготовлению составов для применения в раскрытии можно найти в любом количестве справочников по фармацевтическим препаратам и составам, которые известны специалистам в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит слитый белок, как описано в данном документе, и дополнительно содержит один или более фармацевтически приемлемых носителей и/или наполнителей. Фармацевтически приемлемый носитель включает любые растворители, дисперсионные среды или покрытия, которые являются физиологически совместимыми и которые не препятствуют или иным образом не препятствуют действию активного агента.

В некоторых вариантах осуществления носитель подходит для внутривенного, интратекального, внутриглазного, интрацеребровентрикулярного, внутримышечного, перорального, внутрибрюшинного, трансдермального, местного или подкожного введения. Фармацевтически приемлемые носители могут содержать одно или более физиологически приемлемых соединений, которые действуют, например, для стабилизации композиции или для увеличения или уменьшения абсорбции полипептида. Физиологически приемлемые соединения могут включать, например, углеводы, такие как глюкоза, сахароза или декстраны, антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или глутатион, хелатирующие агенты, низкомолекулярные белки, композиции, которые уменьшают клиренс или гидролиз активных агентов, или вспомогательные вещества или другие стабилизаторы и/или буферы. Другие фармацевтически приемлемые носители и их составы также доступны в данной области техники.

Фармацевтические композиции, описанные в данном документе, могут быть изготовлены, *например*, с помощью обычных способов смешивания, растворения, гранулирования, дражирования, эмульгирования, инкапсулирования, захватывания или лиофилизации. Представленные ниже способы и наполнители являются

иллюстративными.

Для перорального введения слитый белок, описанный в данном документе, может быть составлен путем объединения его с фармацевтически приемлемыми носителями, которые хорошо известны в данной области техники. Такие носители позволяют составлять соединения (*например*, слитые белки, как описано в данном документе) в виде таблеток, пилюль, драже, капсул, эмульсий, липофильных и гидрофильных суспензий, жидкостей, гелей, сиропов, взвесей, суспензий и т. п. для перорального приема подлежащим лечению пациентом. Фармацевтические препараты для перорального применения могут быть получены путем смешивания слитых белков с твердым наполнителем, необязательного измельчения полученной смеси и обработки смеси гранул после добавления подходящих вспомогательных веществ, если желательно, для получения ядер таблеток или драже. Подходящие эксципиенты включают, например, наполнители, такие как сахара, включая лактозу, сахарозу, маннит или сорбит; препараты целлюлозы, например, кукурузный крахмал, пшеничный крахмал, рисовый крахмал, картофельный крахмал, желатин, трагакантовую камедь, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы и/или поливинилпирролидон. При желании могут быть добавлены дезинтегрирующие агенты, такие как сшитый поливинилпирролидон, агар или альгиновая кислота или ее соль, такая как альгинат натрия.

Как раскрыто выше, слитый белок, описанный в данном документе, может быть составлен для парентерального введения путем инъекции, *например*, путем болюсной инъекции или непрерывной инфузии. Для инъекции слитый белок может быть составлен в препараты путем растворения, суспендирования или эмульгирования в водном или неводном растворителе, таком как растительные или другие аналогичные масла, глицериды синтетической алифатической кислоты, сложные эфиры высших алифатических кислот или пропиленгликоль; и при желании с традиционными добавками, такими как растворители, изотонические агенты, суспендирующие агенты, эмульсифицирующие агенты, стабилизаторы и консерванты. В некоторых вариантах осуществления слитый белок может быть составлен в водных растворах, таких как физиологически совместимые буферы, неограничивающие примеры которых включают раствор Хенкса, раствор Рингера и физиологический солевой буфер. Составы для инъекций могут быть представлены в стандартной лекарственной форме, *например*, в ампулах или в контейнерах с множеством доз, с добавленным консервантом. Композиции могут принимать такие формы, как суспензии, растворы или эмульсии в масляных или водных носителях, и могут содержать формулирующие агенты, такие как

суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты.

В некоторых вариантах осуществления слитый белок, как описано в данном документе, готовят для доставки в составе с замедленным высвобождением, контролируемым высвобождением, пролонгированным высвобождением, времяконтролируемым высвобождением или с отсроченным высвобождением, например, в полупроницаемых матрицах твердых гидрофобных полимеров, содержащих активный агент. Были созданы различные типы материалов с замедленным высвобождением, которые хорошо известны специалистам в данной области техники. Составы с пролонгированным высвобождением включают таблетки с пленочным покрытием, системы из множества частиц или гранул, матричные технологии с использованием гидрофильных или липофильных материалов и таблетки на основе воска с порообразующими наполнителями. Обычно составы с замедленным высвобождением могут быть получены с использованием природных или синтетических полимеров, например, полимерных винилпирролидонов, таких как поливинилпирролидон; карбоксивинилгидрофильных полимеров; гидрофобных и/или гидрофильных гидроколлоидов, такие как метилцеллюлоза, этилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза и гидроксипропилметилцеллюлоза; и карбоксиполиметилена.

Как правило, фармацевтическая композиция для применения при введении *in vivo* является стерильной. Стерилизация может быть выполнена способами, известными в данной области техники, *например*, тепловой стерилизацией, стерилизацией паром, стерильной фильтрацией или облучением.

Дозировки и желаемая концентрация лекарственного средства фармацевтических композиций, описанных в данном документе, могут варьироваться в зависимости от конкретного предполагаемого использования. Подходящие дозировки также описаны в разделе XVII выше.

Наборы

В некоторых вариантах осуществления, предложен набор для применения при лечении програнулин-ассоциированного расстройства (*например*, нейродегенеративного заболевания (*например*, ЛВД, НЦЛ, НПА, НПВ, НПС, C9ORF72-ассоциированного БАС/ЛВД, спорадического БАС, БА, болезни Гоше (*например*, болезни Гоше типов 2 и 3) и болезни Паркинсона), атеросклероза, расстройства, ассоциированного с TDP-43, и ВМД), содержащий слитый белок, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно включает один или более дополнительных терапевтических агентов. Например, в некоторых вариантах осуществления набор содержит слитый белок, как описано в данном документе, и

дополнительно включает один или более дополнительных терапевтических агентов для применения при лечении програнулин-ассоциированных расстройств (*например*, нейродегенеративного заболевания (*например*, ЛВД)). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит учебные материалы, содержащие инструкции (*т. е.* протоколы) по применению описанных в данном документе способов (*например*, инструкции по применению набора для введения слитого белка, содержащего полипептид програнулин, через гематоэнцефалический барьер). Хотя учебные материалы обычно содержат письменные или печатные материалы, это не ограничивается ими. Любой носитель информации, способный хранить такие инструкции и передавать их конечному пользователю, предусмотрен настоящим раскрытием. Такие носители информации включают, но не ограничиваются ими, электронные носители данных (*например*, магнитные диски, ленты, картриджи, чипы), оптические носители (*например*, CD-ROM) и тому подобное. Такие средства информации могут включать адреса интернет-сайтов, которые предоставляют такие учебные материалы.

XIX. ТРАНСГЕННЫЕ ЖИВОТНЫЕ

Кроме того, в раскрытии также предложены трансгенные животные, отличные от человека, которые содержат (а) нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный полипептид TfR, содержащий: (i) апикальный домен, имеющий по меньшей мере 90% идентичности с SEQ ID NO:296 и (ii) сайт связывания трансферрина нативного полипептида TfR животного и (b) нокаут гена *GRN*, и причем химерный полипептид TfR экспрессируется в головном мозге животного. Химерные формы рецептора трансферрина включают сайт связывания трансферрина млекопитающих, отличных от человека (*например*, мыши), и апикальный домен, который гетерологичен домену, содержащему сайт связывания трансферрина. Данные химерные рецепторы могут быть экспрессированы у трансгенных животных, в частности, когда сайт связывания трансферрина происходит от трансгенных видов животных и где апикальный домен происходит от приматов (*например*, человека или обезьяны). Химерный полипептид TfR может содержать аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% (*например*, 97%, 98% или 99%) идентичности с SEQ ID NO:300. В данном документе также описан полинуклеотид, кодирующий химерный рецептор трансферрина, который содержит сайт связывания трансферрина млекопитающих, отличных от человека, и апикальный домен, имеющий аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80%, 90%, 95% или 98% идентичную SEQ ID NO:296. Последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая апикальный домен, может включать последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 95% (*например*, 97%, 98% или 99%)

идентичности с SEQ ID NO:301. Трансгенное животное может быть гомозиготным или гетерозиготным по нуклеиновой кислоте, кодирующей химерный полипептид TfR. Кроме того, нокаут гена *GRN* может содержать делецию экзонов 1-4 гена *GRN*.

Способы создания трансгенных мышей с нокаутом опубликованы в литературе и хорошо известны специалистам в данной области техники. Способ создания мыши с нокаутом TfR человека включает пронуклеарную инъекцию в одноклеточные эмбрионы, например, у мышей C57Bl6, с последующим переносом эмбриона псевдобеременной самкам. Более конкретно, в эмбрионы вводятся Cas9, sgRNA и донорская ДНК. Донорская ДНК кодирует кодирующую последовательность апикального домена человека, кодон которого оптимизирован для экспрессии у мышей. Кодирующая последовательность апикального домена может быть фланкирована левым и правым плечом гомологии. Донорная последовательность сконструирована таким образом, что апикальный домен должен быть вставлен после четвертого экзона мыши и сразу фланкирован на 3'-конце девятым экзоном мыши. Самец-основатель от потомства самки, получившей эмбрионы, затем может быть скрещен с самками дикого типа для получения гетерозиготных мышей F1. Гомозиготные мыши могут быть впоследствии получены путем разведения гетерозиготных мышей поколения F1.

В раскрытии также предложено отличное от человека, например, отличное от примата трансгенное животное (*например*, мышь или крыса), экспрессирующее такие химерные TfR, и нокаут гена *GRN*, и применение отличного от человека трансгенного животного для скрининга полипептидов, которые могут проникать через ГРЭ путем связывания с рецептором трансферрина человека (huTfR) *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления отличное от человека трансгенное животное содержит нативный рецептор трансферрина (такой как рецептор трансферрина мыши (mTfR)), в котором апикальный домен заменен ортологическим апикальным доменом, имеющим аминокислотную последовательность по меньшей мере на 80%, 90%, 95% или 98% идентичную SEQ ID NO:296, тем самым оставляя нативный сайт связывания трансферрина и большую часть, *например*, по меньшей мере 70% или по меньшей мере 75% последовательности, кодирующей рецептор трансферрина, нетронутыми. Данное отличное от человека трансгенное животное, таким образом, максимально сохраняет трансферрин-связывающую функциональность эндогенного рецептора трансферрина отличного от человека, включая способность поддерживать надлежащий гомеостаз железа, а также связывать и транспортировать трансферрин. В результате трансгенное животное становится здоровым и пригодным для применения в открытии и разработке терапевтических средств для лечения заболеваний головного мозга.

XX. ПРИМЕРЫ

Настоящее раскрытие будет более подробно описано с помощью конкретных примеров. Следующие примеры ниже предлагаются для иллюстративных целей и никоим образом не предназначены для ограничения раскрытия. Специалисты в данной области техники легко распознают ряд некритических параметров, которые можно изменить или модифицировать с получением практически идентичных результатов. Были приняты меры для сохранения точности в отношении используемых чисел (*например*, количеств, значений температур и *т. д.*), однако следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. В практике по настоящему раскрытию будут использоваться, если не указано иное, стандартные методы химии, биохимии белков, рекомбинантных ДНК и фармакологии в пределах квалификации в данной области техники. Такие методики подробно описаны в литературе. Кроме того, для специалиста в данной области техники должно быть очевидно, что способы конструирования, применяемые к определенным библиотекам, также могут быть применены к другим библиотекам, описанным в данном документе.

Пример 1. Экспрессия и очистка рекомбинантного слитого белка димер Fc:PGRN.

Для экспрессии рекомбинантных слитых белков димер Fc:PGRN в Expi293 (Thermo-Fisher) клетки трансфицировали при плотности 2×10^6 клеток/мл комплексом ExpifectamineTM 293/плазмидная ДНК в соответствии с инструкциями производителя (Thermo-Fisher). После трансфекции клетки инкубировали при 37 °C во влажной атмосфере 6-8% CO₂ в орбитальном шейкере (Infors HT Multitron). В первый день после трансфекции к культуре добавляли усилители трансфекции 1 и 2 ExpifectamineTM. Супернатант среды собирали центрифугированием через 96 часов после трансфекции. В осветленный супернатант добавляли ингибитор протеазы, не содержащий ЭДТА (Roche), и хранили при -80°C.

Для выделения рекомбинантного слитого белка супернатант осветленной среды загружали в аффинную колонку HiTrap MabSelect SuRe Protein A (GE Healthcare Life Sciences) и промывали промывочным буфером I (буфер PBS, pH 7,4) и промывочным буфером II (буфер PBS, pH 7,4 и 150 mM NaCl). Слитый белок элюировали в 50 mM цитратном буфере QB pH 3,0 с 150 mM NaCl. Сразу после элюирования добавляли аргинин-сукцинатный буфер (1 M аргинин, 685 mM янтарной кислоты, pH 5,0) для регулирования pH. Белковые агрегаты отделяли от монодисперсных слитых белков с помощью эксклюзионной хроматографии по размеру (SEC) на колонке Superdex 200 increase 16/60 GL (GE Healthcare Life Sciences). Подвижную фазу SEC хранили в аргинин-сукцинатном буфере pH 5,0. Все стадии хроматографии выполняли на системах АКТА

pure или AKTA Avant (GE Healthcare Life Sciences).

На фиг. 1А представлено схематическое изображение трех слитых белков димер Fc:PGRN Слияния 1, Слияния 2 и Слияния 3. В Слиянии 1 и Слиянии 2 N-конец PGRN слит с C-концом полипептида Fc, который не содержат TfR-связывающие мутации (обозначено звездочкой) посредством линкера $(G_4S)_2$ (SEQ ID NO:276) и линкера G_4S (SEQ ID NO:277), соответственно. В Слиянии 3 C-конец PGRN слит с N-концом полипептида Fc, который не содержит TfR-связывающие мутации (обозначено звездочкой), посредством линкера $(G_4S)_2$. На ФИГ. 1В показано, что слитые белки Слияния 1, Слияния 2 и Слияния 3, каждый из которых содержит одну молекулу PGRN, были очищены до чистоты более 85%.

На фиг. 1С представлено схематическое изображение, показывающее слитый белок димер Fc:PGRN Слияния 4, Слияния 5 и Слияния 6. В Слиянии 4 каждая из двух молекул PGRN слита с C-концом полипептида Fc посредством линкера $(G_4S)_2$. Одна молекула PGRN слита с C-концом полипептида Fc, содержащего TfR-связывающие мутации (обозначено звездочкой), в то время как другая молекула PGRN слита с C-концом полипептида Fc без TfR-связывающих мутаций. В Слиянии 5 одна молекула PGRN слита с N-концом полипептида Fc, содержащего TfR-связывающие мутации (обозначены звездочкой), посредством линкера $(G_4S)_2$, в то время как другая молекула PGRN слита с C-концом другого полипептида Fc без TfR-связывающих мутаций. В Слиянии 6 каждая из двух молекул PGRN слита с N-концом полипептида Fc посредством линкера $(G_4S)_2$. Одна молекула PGRN слита с N-концом полипептида Fc, содержащего TfR-связывающие мутации (обозначено звездочкой), в то время как другая молекула PGRN слита с N-концом полипептида Fc без TfR-связывающих мутаций. На ФИГ. 1D показано, что слитые белки Слияния 4 и Слияния 5, каждый из которых содержит две молекулы PGRN, были очищены до чистоты более 85%.

Другие слитые белки димер Fc:PGRN включают Слияние 7 и Слияние 8 (ФИГ. 1Е). Оба слитых белка Слияния 7 и Слияния 8 содержат полипептиды Fc, которые не содержат TfR-связывающих мутаций. В Слиянии 7 N-конец PGRN слит с C-концом полипептида Fc посредством линкера $(G_4S)_2$. В Слиянии 8 C-конец PGRN слит с N-концом полипептида Fc посредством линкера $(G_4S)_2$. Дополнительные слитые белки димер Fc:PGRN описаны в таблице 1 ниже, в которой перечислены последовательности для каждого слитого белка.

Таблица 1. Последовательности димера Fc:PGRN

Димер Fc:PGRN	Полипептид Fc и PGRN	Полипептид Fc или полипептид Fc и PGRN
Слияние 1	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:213	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C.35.21.17) и мутациями типа «выступа»: SEQ ID NO:273
Слияние 2	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»-G ₄ S-PGRN: SEQ ID NO:214	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C.35.21.17) и мутациями типа «выступа»: SEQ ID NO:273
Слияние 3	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»: SEQ ID NO:225	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C.35.21.17) и мутациями типа «выступа»: SEQ ID NO:273
Слияние 4	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:213	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающей мутацией (CH3C.35.21.17) и мутацией типа «выступа»-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:274
Слияние 5	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:213	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающей мутацией (CH3C35.21.17) и мутацией типа «выступа»: SEQ ID NO:275
Слияние 6	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»: SEQ ID NO:225	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающей мутацией (CH3C35.21.17) и мутацией типа «выступа»: SEQ ID NO:275
Слияние 7	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:213	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутацией типа «выступа»: SEQ ID NO:261
Слияние 8	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»: SEQ ID NO:225	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутацией типа «выступа»: SEQ ID NO:261
Слияние 9	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C.35.21) и мутациями

Димер Fc:PGRN	Полипептид Fc и PGRN	Полипептид Fc или полипептид Fc и PGRN
		типа «выступа», и LALA: SEQ ID NO: 110.
Слияние 10	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA: SEQ ID NO:227	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C.35.21) и мутациями типа «выступа», и LALA: SEQ ID NO: 110.
Слияние 11	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C35.21.17) и мутациями типа «выступа», и LALA: SEQ ID NO:291
Слияние 12	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA: SEQ ID NO:227	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C35.21.17) и мутациями типа «выступа», и LALA: SEQ ID NO:291
Слияние 13	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C.35.21.17) и мутациями типа «выступа»: SEQ ID NO:273
Слияние 14	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA: SEQ ID NO:227	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C.35.21.17) и мутациями типа «выступа»: SEQ ID NO:273
Слияние 15	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C35.23.2) и мутациями типа «выступа», и LALA: SEQ ID NO:210
Слияние 16	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA: SEQ ID NO:227	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C35.23.2) и мутациями типа «выступа», и LALA: SEQ ID NO:210
Слияние 17	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C35.23.2) и мутациями типа «выступа», и LALAPG: SEQ ID NO:282

Димер Fc:PGRN	Полипептид Fc и PGRN	Полипептид Fc или полипептид Fc и PGRN
Слияние 18	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA: SEQ ID NO:227	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C35.23.2) и мутациями типа «выступа», и LALAPG: SEQ ID NO:282
Слияние 19	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C35.23.2) и мутациями типа «выступа», LALA и LS: SEQ ID NO:284
Слияние 20	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA: SEQ ID NO:227	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C35.23.2) и мутациями типа «выступа», LALA и LS: SEQ ID NO:284
Слияние 21	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN: SEQ ID NO:215	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C35.23.2) и мутациями типа «выступа», LALAPG и LS: SEQ ID NO:285
Слияние 22	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA: SEQ ID NO:227	Частичный шарнир-полипептид Fc с TfR-связывающими мутациями (CH3C35.23.2) и мутациями типа «выступа», LALAPG и LS: SEQ ID NO:285

Пример 2. Связывание рекомбинантного слитого белка димер Fc:PGRN с hTfR и сортилином.

Все эксперименты по поверхностному плазмонному резонансу (ППР) проводили на приборе GE Healthcare Biacore 8K с сенсорным чипом CM5 серии S и подвижным буфером HBS-EP+ при 25 °C. Для измерения аффинности связывания слитых белков для hTfR сенсорный чип был иммобилизован стрептавидином и был захвачен биотинилированный AviTag-hTfR. Использовали одноцикловую кинетику с 3-кратной серией концентраций аналита слитого белка в диапазоне от 25 нМ - 2 μМ, с учетом времени контакта 80 секунд, времени диссоциации 180 секунд и скорости потока 30 μл/мин. Для демонстрации того, что слитые белки способны связывать hTfR, использовали стационарную модель аффинности.

Для измерения аффинности связывания с сортилином слитые белки захватывали с

использованием сенсорного чипа, который иммобилизовали с помощью набора для захвата человеческих антител GE Healthcare. Использовали многоцикловую кинетику с 3-кратной серией концентраций аналита сортилина в диапазоне от 0,4 до 100 нМ, с учетом времени контакта 300 секунд, времени диссоциации 600 секунд и скорости потока 30 $\mu\text{л/мин}$. Модель кинетики 1:1 использовали для оценки кинетики связывания сортилина. Аффинности связывания двух слитых белков димер Fc:PGRN с сортилином следующие: Слияние 1:19 нМ и Слияние 2:19 нМ, которые аналогичны аффинности связывания сортилина с PGRN, описанной в литературе (около 18 нМ). Слияние 3 не показало связывание с сортилином. Слияние Fc на С-конце PGRN может блокировать сайт связывания сортилина PGRN. В качестве альтернативы иммобилизованный Fc, используемый в анализе Biacore, может вызывать стерические препятствия для доступа сортилина к С-концу PGRN.

Пример 3. Поглощение клетками.

Макрофаги из костного мозга (BMDM), выделенные из мышей *GRN* ДТ и мышей КО, обрабатывали в течение 16 часов 50 нМ рекомбинантным програнулином (PGRN) (Adipogen), 50 нМ слитыми белками димер Fc:PGRN или лентивирусом PGRN человека. Фиксированные BMDM иммуноокрашивали антителами против PGRN человека (R&D Systems) и Fc человека (Thermo Fisher Scientific). Клеточное поглощение было количественно оценено при помощи платформы для одновременной многопараметрической визуализации Opera Phenix (PerkinElmer) в конфокальном режиме. Обработка рекомбинантным PGRN и полноразмерными слитыми белками димер Fc:PGRN (Слияние 1, Слияние 2 и Слияние 3) привела к устойчивому увеличению клеточного PGRN, как показано окрашиванием как PGRN, так и Fc (ФИГ. 2А и 2В), что указывает на эффективное поглощение. Слитый белок гранулина Е (SEQ ID NO:280 (частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»)-(G₄S)₂-слияние гранулина Е (аминокислоты 497-593 SEQ ID NO:211)), димеризованный с полипептидом Fc с мутациями типа «выступа») использовали в качестве отрицательного контроля.

Пример 4. Анализ протеолиза.

Анализ DQ-BSA

DQ-BSA Red представляет собой белок BSA, сильно конъюгированный с красителем BODIPY Red. DQ-BSA Red представляет собой флуорогенный субстрат (максимальное возбуждение при 590 нм, эмиссия при 615 нм) для резидентных протеаз эндолизосомальной системы. Как только DQ-BSA гидролизует до более мелких меченных красителем пептидов внутри лизосом, сильный эффект самогашения, обеспечиваемый сильным мечением красителя Bodipy, ослабляется, вызывая значительное

увеличение флуоресценции, которое поддается количественному определению методом конфокальной микроскопии.

В экспериментах BMDM, выделенные из мышей *GRN* ДТ и КО, обрабатывали в течение 6 часов конечной концентрацией 10 мкг/мл DQ-BSA Red в полной среде. Этот период времени позволил DQ-BSA пассивно загружаться в клетки за счет эндоцитоза жидкой фазы, что привело к его распределению по эндолизосомной сети и, в конечном итоге, к его протеолизу в лизосомах.

После завершения 6-часовой обработки BMDM трижды промывали PBS и фиксировали 4% PFA в PBS в течение 15 минут. Чтобы промаркировать клеточные ядра для конфокальной микроскопии, фиксированные BMDM обрабатывали 1 мкг/мл DAPI (Thermo-Fisher) в PBS в течение 10 мин и отображали на платформе для одновременной многопараметрической визуализации Opera-Phenix (PerkinElmer). Сигнал непогашенного Bodipy-Red измеряли путем возбуждения при 568 нм, а эндолизосомальный протеолиз количественно оценивали путем вычисления интегрированной площади пятна Bodipy на клетку с использованием модуля автоматического анализа, встроенного в программное обеспечение Harmony (PerkinElmer).

BMDM *GRN* ДТ и КО предварительно обрабатывали 50 нМ рекомбинантным PGRN (Adipogen), 50 нМ слитыми белками димер Fc:PGRN или лентивирусом PGRN человека в течение 48 часов. Погашенный флуорогенный конъюгат Bodipy-BSA (DQ-BSA Red, Thermo Fisher Scientific) добавляли к предварительно обработанным BMDM в конечной концентрации 10 мкг/мл в течение 6 часов. Сигнал непогашенного Bodipy-Red измеряли путем возбуждения при 568 нм с использованием платформы для одновременной многопараметрической визуализации Opera-Phenix (PerkinElmer) в конфокальном режиме. Эндолизосомальный протеолиз количественно оценивали путем вычисления интегрированной площади пятна Bodipy на клетку с использованием модуля автоматического анализа, встроенного в программное обеспечение Harmony (PerkinElmer). Слитые белки димер Fc:PGRN показали полное (Слияние 1) или частичное (Слияние 2 и Слияние 3) нарушение протеолитического дефицита в BMDM КО (ФИГ. 3). Как показано на ФИГ. 3, слитому белку белок гранулина E (SEQ ID NO:280 (частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»)-(G4S)₂-слияние гранулина E (аминокислоты 497-593 SEQ ID NO:211)), димеризованный с полипептидом Fc с мутациями типа «выступа») не удалось устранить протеолиз.

Пример 5. Доза-ответ конъюгата Bodipy-BSA

BMDM ДТ и КО *GRN* обрабатывали в течение 24 часов в анализе конъюгата Bodipy-BSA (DQ-BSA) с полулогарифмическим титрованием дозы (от 100 нМ до 10 пМ)

слитых белков димер Fc:PGRN (Слияние 1, Слияние 3, Слияние 4 и Слияние 5). Эндолизосомный протеолиз определяли, как было описано ранее. Слияние 5 продемонстрировало доказательство повышенной активности DQ-BSA (ФИГ. 4).

Пример 6. Анализ катепсина D.

Флуорогенный зонд использовали для измерения активности катепсина D в клеточных лизатах. BMDM ДТ и KO *GRN* обрабатывали в течение 72 часов слитыми белками димер Fc:PGRN в концентрации 50 нМ, затем клетки лизировали в буфере для лизиса CST. Клеточный лизат разводили в буфере для анализа с низким pH и смешивали с флуорогенным зондом. Активность катепсина D считывали на устройстве для считывания планшетов и рассчитывали в виде кратности повышения по сравнению с необработанными животными ДТ. Три слитых белка (Слияние 1, Слияние 2 и Слияние 3) показали частичное устранение повышенной активности катепсина D, наблюдаемой в BMDM KO *GRN* (ФИГ. 5).

Пример 7. Нарушение регуляции лизосомного гена.

BMDM ДТ и KO *GRN* обрабатывали в течение 72 часов слитым белком димер Fc:PGRN Слияние 1 в концентрации от 5 до 50 нМ. Клетки лизировали и экстрагировали РНК с использованием набора Cell-to-CT (Fisher Scientific). Уровни мРНК лизосомных генов *Ctsl*, *Tmem106b* и *Psap* измеряли с помощью кПЦР. Обработка слитым белком димер Fc:PGRN. Слияние 1 показало частичное восстановление повышения уровня лизосомных генов в BMDM KO *GRN* (ФИГ. 6B-6D).

Пример 8. Фармакокинетические свойства слитых белков в плазме и печени.

Мышам ДТ однократно вводили дозу 10 мг/кг слитого белка димер Fc:PGRN Слияние 1 или Слияние 3, и образцы плазмы получали в указанные моменты времени. Печень гомогенизировали в буфере для лизиса CST с использованием гомогенизации шариками. Концентрацию каждого слитого белка димер Fc:PGRN измеряли с помощью ИФА как в плазме, так и в конечных образцах печени с использованием архитектуры Fc-захват-PGRN-обнаружение. ФК профили указывают на аналогичный клиренс и период полужизни двух слитых белков (ФИГ. 7A и 7B).

Пример 9. Поглощение слитых белков головным мозгом у мышей с нокином hTfR.

Данное исследование было направлено на определение того, могут ли слитые белки димер Fc:PGRN (Слияние 1 и Слияние 3) быть обнаружены в головном мозге мышей, экспрессирующих hTfR (описание мышей см., например, в патенте США № 10 143 187). Слитые белки вводили через хвостовую вену мышам с нокином hTfR (hTfR.KI) (гомозиготным) и нетрансгенным мышам, чтобы определить, может ли програнулин человека (hPGRN) быть обнаружен в головном мозге мышей hTfR.KI и, если

да, то какова кратность повышения hPGRN у мышей hTfR.KI по сравнению с нетрансгенными мышами, лишенными hTfR, которым также проводилась инъекция.

Материалы и методы

Животные: Мыши, использованные для этого исследования, были получены от JAX Laboratories и состояли из 16 мышей hTfR.KI (гомозиготных) и 10 нетрансгенных самцов C57BL/6 в возрасте 8 недель. Животных содержали в стандартных условиях вивария с неограниченным доступом к пище и воде по меньшей мере за 7 дней до начала исследования.

Таблица 2. Дизайн исследования/экспериментальные группы

Генотип	Белок	Доза (мг/кг)	Временная точка (ч)	Кол-во групп	Ткань/жидкости, подлежащие забору	Материал (мг)
hTfR.KI (гомозиготные)	Носитель	-	15, 4	4	Плазма, головной мозг, печень	Н/П
	Слияние 1	50	15, 4	5	Плазма, головной мозг, печень	7,5 мг
	Слияние 3	50	15, 4	6	Плазма, головной мозг, печень	7,5 мг
ДТ	Слияние 1	50	15, 4	5	Плазма, головной мозг, печень	7,5 мг
	Слияние 3	50	15, 4	5	Плазма, головной мозг, печень	7,5 мг

Распределение животных по экспериментальным группам: все животные, использованные в этом исследовании, были самцами, но были распределены поровну в каждой экспериментальной группе для учета различий между пометами.

Состав: слитые белки димер Fc:PGRN Слияние 1 и Слияние 3 использовали в концентрации 5,87 мг/мл и 4,98 мг/мл, соответственно.

Общие процедуры: Условия эксперимента меняли при сборе тканей. Группы животных и сбор образцов были рандомизированными.

Прижизненные процедуры: поднижнечелюстной забор крови выполняли с использованием 3-миллиметровых ланцетов (ланцеты для животных GoldenRod). Сбор плазмы. Кровь собирали в пробирки с ЭДТА (Sarstedt Microvette 500 K3E, номер по каталогу 201341102) и медленно переворачивая 10 раз. Для небольших объемов крови (<100 мкл) кровь собирали в пробирки с ЭДТА капилляром (Sarstedt Microvette 100 K3E, номер по каталогу 201278100). Пробирки с ЭДТА сразу же отправляли на хранение в холодильник до приготовления плазмы. Время от хранения до приготовления не превышало 1 часа. Время сбора и время обработки соблюдались последовательно. Пробирки центрифугировали при 12700 об/мин в течение 7 минут при 4 °C. Плазму

(верхний слой) переносили в пробирки с матрицей объемом 0,6 мл с резиновым уплотнением. Пробирки с матрицей быстро замораживали на сухом льду перед переносом до -80°C .

Процедуры сбора жидкостей/тканей после умерщвления: Животных глубоко анестезировали посредством внутривентриальной (в/б) инъекции 2,5% авертина, а затем ткани собирали в порядке, описанном ниже:

Образцы, собранные перед внутрисердечной перфузией: Сбор плазмы: Кровь собирали посредством сердечной пункции с использованием туберкулинового шприца Terumo объемом 1 мл, прикрепленного к игле 25 калибра (номер по каталогу SS-01T2516) (без предварительной обработки ЭДТА). Затем иглу отсоединяли, кровь переносили в пробирки с ЭДТА (Sarstedt Microvette 500 K3E, номер по каталогу 201341102) и медленно переворачивая 10 раз. После этой процедуры применение способов после сбора было продолжено, как описано выше в разделе «Прижизненные процедуры».

Для образцов, собранных после внутрисердечной перфузии, животным проводили транскардиальную перфузию в течение 5 минут ледяным PBS с использованием перистальтического насоса (Gilson Inc. Minipuls Evolution F110701) при скорости потока 5 мл/мин. Для тканей, которые можно рассечь и предварительно взвесить во время сбора, образцы помещали непосредственно в пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл. Ткани собирали в следующем порядке: Печень (после перфузии): около 100 мг печени собирали в пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл. Пробирки типа Эппендорф быстро замораживали на сухом льду перед переносом до -80°C . Головной мозг: Правое полушарие пересекали на части для анализа ФК и другие части головного мозга. Как 50 мг образцы для анализа ФК, так и оставшиеся части головного мозга собирали в пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл. Пробирки типа Эппендорф быстро замораживали на сухом льду перед переносом до -80°C . Левое полушарие помещали в 4 мл свежеприготовленного 4% параформальдегида при 4°C на 72 часа, а затем переносили в 30% сахарозу на 72 часа перед тем, как разрезать на замораживающем микротоме коронально с размером 30 мкм/срез.

Протокол гомогенизации

Буфер для гомогенизации был приготовлен путем приготовления 1X Cell Signaling Technology 10X буфера для лизиса клеток (номер по каталогу: 9803) (1X буфера: 20 mM трис-HCl (pH 7,5), 150 mM NaCl, 1 mM Na_2EDTA , 1 mM EGTA, 1% тритон, 2,5 mM пирогенфосфат натрия, 1 mM β -глицерофосфат, 1 mM Na_3VO_4 , 1 мкг/мл лейпептина) и добавления 1X ингибитора протеазы (полный набор мини-таблеток для коктейля с ингибитором протеазы, номер по каталогу Roche 04693124001) и 1X ингибитора

фосфатазы (PhosSTOP, Roche, номер по каталогу 04906837001). Буфер для лизиса добавляли примерно в 10 раз большем объеме, чем масса ткани для образцов головного мозга и печени в пробирки объемом 1,5 мл. В каждую пробирку добавляли шарик из карбида вольфрама 3 мм (Qiagen, номер по каталогу 69997), и пробирки загружали в кассеты TissueLyser. Образцы гомогенизировали на TissueLyser II (Qiagen, номер по каталогу 85300) при 29 Гц в течение 6 минут (2 прогона по 3 минуты). Затем образцы удаляли и прогоняли с максимальной скоростью (18000 g) на настольной центрифуге в течение 30 минут при 4 °C. Супернатант переносили в новую пробирку типа Эппендорф объемом 1,5 мл и концентрацию белка измеряли с помощью BCA.

Протокол для захвата Fc hPGRN в ИФА

Для ИФА 384-луночные прозрачные микропланшеты (Thermo Fisher Scientific 464718) покрывали ослиным поликлональным антителом, специфичным к человеческому Fc (Jackson ImmunoResearch, номер по каталогу 709-006-098). Захватывающее антитело разводили до конечной концентрации 1 мкг/мл в буфере из биокarbonата натрия. В каждый аналитический планшет добавляли 25 мкл/лунку раствора для захватывающего покрытия, и планшеты инкубировали в течение ночи при 4 °C.

В день проведения анализа аналитические планшеты промывали 3 раза буфером PBST с использованием автоматического устройства для промывки планшетоов (Biotek), после чего добавляли 80 мкл/лунку блокирующего раствора (5% BSA в буфере PBST). Аналитические планшеты инкубировали в блокирующем растворе не менее 1 часа при комнатной температуре. Во время блокирования готовили разведения образцов плазмы, лизата печени и лизата головного мозга в буфере для разведения для анализа (1% BSA в PBST) в 96-луночных полипропиленовых планшетах с V-образным дном (Greiner Bio-One 651201). Для плазмы готовили серийные разведения 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10 000, 1:100 000 и 1:1 000 000. Для печени были приготовлены серийные разведения 1:20, 1:100, 1:200, 1:400 и 1:800. Для головного мозга были приготовлены серийные разведения 1:10 и 1:40. Кроме того, образцы стандартной кривой в диапазоне концентраций от 2 до 0 нМ были приготовлены как для Слияния 1, так и для Слияния 3 с использованием того же исходного материала, который использовали для дозирования. Для всех образцов и стандартов в 96-луночных планшетах готовили минимальный объем 100 мкл.

После блокировки аналитические планшеты промывали 3 раза PBST с использованием устройства для промывки планшетоов, а затем использовали робот для переноса жидкости (Hamilton) для переноса по 25 мкл каждого стандарта или образца (в двух повторностях) на аналитические планшеты. После переноса образцов аналитические планшеты закрывали и инкубировали в течение 2 часов при комнатной температуре.

Раствор детекторного антитела был приготовлен разбавлением биотинилированного козьего поликлонального антитела для обнаружения програнулина человека (R&D, номер по каталогу BAF2420; ФИГ. 8А, 8В, 9А и 9В) или другого детекторного антитела, нацеленного на сайт в Fc (ФИГ. 10А, 10В, 11А и 11В) до конечной концентрации 0,5 мкг/мл в буфере для разведения для анализа. После инкубации образцов планшеты промывали 6 раз PBST с использованием устройства для промывки планшетов (поворот планшетов на 180 градусов после первых 3 промывок), и в планшеты добавляли 25 мкл/лунку раствора для обнаружения. Аналитические планшеты инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре с детекторными антителами, после чего их промывали 3 раза PBST с использованием устройства для промывки планшетов. Рабочий раствор стрептавидин-HRP (Jackson ImmunoResearch, номер по каталогу 016-030-084) готовили путем разбавления исходного раствора стрептавидин-HRP 1:50 000 в буфере для разведения для анализа. По 25 мкл/лунку этого раствора добавляли в каждую лунку, и планшеты инкубировали в течение 1 часа при комнатной температуре.

После инкубации стрептавидин-HRP планшеты 3 раза промывали PBST на устройстве для промывки планшетов и в аналитические планшеты добавляли 25 мкл/лунку 1-стадийного раствора субстрата Ultra-TMB (Thermo Fisher, номер по каталогу 34029). Аналитические планшеты инкубировали при комнатной температуре в течение около 10 минут для проявления цвета, после чего добавляли 25 мкл/лунку жидкого останавливающего раствора BioFX 450 нм (Surmodics, номер по каталогу LSTP-1000-01). После добавления останавливающего раствора планшеты считывали с использованием режима поглощения устройства для считывания планшетов (BioTek).

Необработанные данные поглощения ИФА анализировали, сначала путем вычитания фонового сигнала поглощения (из лунок, не содержащих образца или стандарта в разбавителе для анализа) из всех аналитических лунок. Средние значения образцов стандартной кривой аппроксимировали с использованием четырехпараметрической логистической модели с использованием программного обеспечения GraphPad Prism, и аппроксимацию использовали для расчета концентрации Слияния 1 и Слияния 3 в каждом образце лизата плазмы или ткани (после поправки на разбавление образца). Для лизатов головного мозга и печени концентрации умножали на 10, чтобы откорректировать разбавление ткани во время приготовления лизата для получения значения концентрации в исходном образце ткани.

Результаты

Уровни слитых белков димер Fc:PGRN в головном мозге и печени у мышей hTfR и ДТ показаны на ФИГ. 8А и 8В (сгенерированы с использованием биотинилированного

козьего поликлонального детекторного антитела для обнаружения програнулина человека (R&D, номер по каталогу BAF2420)). Мыши hTfR показали значительное увеличение поглощения слитых белков димер Fc:PGRN по сравнению с таковыми значениями у мышей ДТ. На фиг. 9А и 9В показано соотношение головной мозг:плазма и соотношения головной мозг:печень, соответственно, слитых белков Fc-димер:PGRN Слияния 1 и Слияния 3, нормализованных к Слиянию 3 в ДТ. Кроме того, на ФИГ. 10А, 10В, 11А и 11В (сгенерированные с использованием другого детекторного антитела, которое нацелено на сайт в Fc) также показано, что мыши hTfR имели больший уровень поглощения слитых белков димер Fc:PGRN в головном мозге по сравнению с мышами ДТ.

Пример 10. Фармакокинетические свойства слитых белков в плазме.

Мышам ДТ однократно вводили дозу 10 мг/кг слитого белка димер Fc:PGRN Слияния 1 или Слияния 3, и образцы плазмы получали в указанные моменты времени. Концентрацию каждого слитого белка димер Fc:PGRN измеряли с помощью ИФА в образцах плазмы с использованием архитектуры Fc-захват-Fc-обнаружение. Используемое детекторное антитело обнаруживает сайт в Fc слитых белков. На ФИГ. 12А и 12В показаны средние концентрации Слияния 1 и Слияния 3 в плазме. На ФИГ. 12С и 12D показаны концентрации Слияния 1 и Слияния 3 в плазме через 0,25 часа и 4 часа после введения дозы.

Пример 11. Модифицированные полипептиды Fc, которые связываются с TfR.

В данном примере описаны модификации полипептидов Fc для обеспечения связывания рецептора трансферрина (TfR) и транспорта через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).

Если не указано иное, положения аминокислотных остатков в данном разделе пронумерованы на основе индексной нумерации EU для области Fc дикого типа IgG1 человека.

Создание и характеристика полипептидов Fc, содержащих модификации в положениях 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421 (клоны CH3C)

Дрожжевые библиотеки, содержащие области Fc с модификациями, введенными в положения, включая положения аминокислот 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, были созданы, как описано ниже. Иллюстративные клоны, которые связываются с TfR, показаны в таблицах 6 и 7 в конце раздела «Примеры».

После дополнительных двух раундов сортировки отдельные клоны секвенировали и идентифицировали четыре уникальные последовательности. Данные последовательности содержали консервативный Trp в положении 388, и все имели

ароматический остаток (*m. e.* Trp, Tug или His) в положении 421. На других положениях было большое разнообразие вариантов.

Четыре клона, выбранные из библиотеки, были экспрессированы как слитые Fc с фрагментами Fab в клетках CHO или 293 и очищены с помощью протеина А и эксклюзионной хроматографии, а затем подвергнуты скринингу на связывание с TfR человека в присутствии или в отсутствие голо-Tf с помощью ИФА. Все клоны связывались с TfR человека, и на связывание не влияло добавление избытка (5 мкМ) голо-Tf. Клоны также тестировали на связывание с клетками 293F, которые эндогенно экспрессируют TfR человека. Клоны связывались с клетками 293F, хотя общее связывание было значительно слабее, чем у высокоаффинного положительного контроля.

Затем было проверено, могут ли клоны интернализироваться в TfR-экспрессирующих клетках с использованием клона CH3C.3 в качестве тестируемого клона. Адгезивные клетки НЕК 293 выращивали в 96-луночных планшетах примерно до 80% слияния, среду удаляли и добавляли образцы в концентрации 1 мкМ:клон CH3C.3, эталонное антитело против TfR положительного контроля (Ab204), эталонное антитело против BACE1 отрицательного контроля (Ab107) и изотипический контроль IgG человека (полученный от Jackson Immunoresearch). Клетки инкубировали при 37°C и 8% концентрации CO₂ в течение 30 минут, затем промывали, пермеабилизировали с помощью 0,1% Triton[™] X-100 и окрашивали вторичным антителом против IgG человека Alexa Fluor[®] 488. После дополнительной промывки клетки были визуализированы под флуоресцентным многопараметрическим микроскопом (*m. e.*, в системе Opera Phenix[™]), и было определено количество точек на клетку. При 1 мкМ клон CH3C.3 показал аналогичную склонность к интернализации с положительным контролем против TfR, тогда как отрицательные контроли не показали интернализации.

Дальнейшее конструирование клонов

Дополнительные библиотеки были созданы для повышения аффинности начальных совпадений против TfR человека с использованием подхода легкой рандомизации, в котором ДНК-олигонуклеотиды были созданы для введения легкого мутагенеза на основе каждого из четырех исходных совпадений. Были идентифицированы дополнительные клоны, которые связывались с TfR, и они были отобраны. Отобранные клоны попали в две общие группы последовательностей. Клоны группы 1 (*m. e.* клоны CH3C.18, CH3C.21, CH3C.25 и CH3C.34) имели полуконсервативный Leu в положении 384, Leu или His в положении 386, консервативный и полуконсервативный Val в положениях 387 и 389, соответственно, и полуконсервативный мотив P-T-W в положениях 413, 416 и 421, соответственно. Клоны группы 2 имели консервативный Tug в положении 384, мотив

TXWSX в положениях 386-390 и консервативный мотив S/T-E-F в положениях 413, 416 и 421, соответственно. Клоны CH3C.18 и CH3C.35 использовали в дополнительных исследованиях в качестве репрезентативных членов каждой группы последовательностей.

Картирование эпитопа

Чтобы определить, связаны ли сконструированные области Fc с апикальным доменом TfR, апикальный домен TfR экспрессировали на поверхности фага. Чтобы правильно сложить и отобразить апикальный домен, необходимо было обрезать одну из петель и переставить последовательность по кругу. Клоны CH3C.18 и CH3C.35 наносили на планшеты для ИФА и следовали протоколу ИФА для фагов. Вкратце, после промывки и блокирования 1% PBSA добавляли разведения фагового дисплея и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем планшеты промывали и добавляли анти-M13-HRP, и после дополнительной промывки планшеты проявляли субстратом TMB и гасили с применением 2 н. H₂SO₄. Оба клон CH3C.18 и CH3C.35 связывались с апикальным доменом в данном анализе.

Картирование паратопа

Чтобы понять, какие остатки в домене Fc были наиболее важны для связывания TfR, была создана серия областей Fc мутантного клон CH3C.18 и клон CH3C.35, в которых каждый мутант имел одно положение в регистре связывания TfR, мутировав обратно к дикому типу. Полученные варианты рекомбинантно экспрессировали в виде слияний Fc-Fab и тестировали на связывание с TfR человека или яванского макака. Для клон CH3C.35 положения 388 и 421 были важны для связывания; возвращение любого из них к дикому типу полностью отменяло связывание с TfR человека.

Характеристика связывания созревающих клонов

ИФА связывания проводили с очищенными вариантами слияния Fc-Fab с TfR человека или яванского макака, нанесенными на планшет, как описано выше. Варианты из библиотеки созревания клон CH3C.18, клон CH3C.3.2-1, клон CH3C.3.2-5 и клон CH3C.3.2-19 связывали TfR человека и яванского макака с приблизительно эквивалентными значениями EC₅₀, тогда как родительские клоны CH3C.18 и CH3C.35 имели более чем в 10 раз лучшее связывание с TfR человека по сравнению с TfR яванского макака.

Затем было проверено, интернализуются ли модифицированные полипептиды Fc в клетках человека и обезьяны. Используя протокол, описанный выше, тестировали интернализацию в человеческих клетках HEK 293 и клетках LLC-MK2 резуса. Варианты, которые сходным образом связывали TfR человека и яванского макака, клоны CH3C.3.2-5 и CH3C.3.2-19, имели значительно улучшенную интернализацию в клетках LLC-MK2 по

сравнению с клоном CH3C.35.

Дополнительное конструирование клонов

Дополнительное конструирование для получения дополнительных клонов CH3C.18 и CH3C.35 аффинной зрелости включало добавление дополнительных мутаций в положения, которые усиливали связывание посредством прямых взаимодействий, взаимодействий второй оболочки или стабилизации структуры. Это было достигнуто путем генерации и выбора из библиотеки «NNK walk» или «NNK patch». Библиотека «NNK walk» включала создание мутаций NNK одну за другой остатков, которые находятся рядом с паратопом. При изучении структуры Fc, связанного с Fc γ RI (PDB ID: 4W4O), 44 остатка рядом с исходными положениями модификации были идентифицированы как кандидаты для запроса. В частности, следующие остатки были нацелены на мутагенез NNK: K248, R255, Q342, R344, E345, Q347, T359, K360, N361, Q362, S364, K370, E380, E382, S383, G385, Y391, K392, T393, D399, S400, D401, S403, K409, L410, T411, V412, K414, S415, Q418, Q419, G420, V422, F423, S424, S426, Q438, S440, S442, L443, S444, P4458, G446 и K447. 44 библиотеки одноточечных NNK были созданы с использованием мутагенеза по Кункелю, а продукты были объединены и введены в дрожжи посредством электропорации, как описано выше для других дрожжевых библиотек.

Комбинация этих мини-библиотек (каждая из которых имела одну мутацию в положении, что дало 20 вариантов) сгенерировала небольшую библиотеку, которая была отобрана с использованием дрожжевого поверхностного дисплея для любых положений, которые приводят к связыванию с более высокой аффинностью. Отбор выполняли, как описано выше, с использованием белков апикального домена TfR. После трех раундов сортировки клоны из обогащенной дрожжевой библиотеки были секвенированы, и было идентифицировано несколько «горячих точек», где определенные точечные мутации значительно улучшили связывание с белками апикального домена. Для клона CH3C.35 эти мутации включали E380 (мутировавший в Trp, Tyr, Leu или Gln) и S415 (мутировавший в Glu). Последовательности одиночных и комбинированных мутантов клона CH3C.35 представлены в SEQ ID NO:27-38. Для клона CH3C.18 эти мутации включали E380 (мутировавший в Trp, Tyr или Leu) и K392 (мутировавший в Gln, Phe или His). Последовательности одиночных мутантов клона CH3C.18 представлены в SEQ ID NO:21-26.

Дополнительные библиотеки созревания для улучшения аффинности клона CH3C.35

Дополнительная библиотека для идентификации комбинаций мутаций из

библиотеки «NNK walk», при добавлении нескольких дополнительных положений на их периферии, была создана, как описано для предыдущих дрожжевых библиотек. В этой библиотеке мотивы YxTEWSS (SEQ ID NO:302) и TxxExxxxF оставались постоянными, а шесть положений были полностью рандомизированы: E380, K392, K414, S415, S424 и S426. Положения E380 и S415 были включены, поскольку они были «горячими точками» в библиотеке «NNK walk». Положения K392, S424 и S426 были включены, поскольку они составляют часть ядра, которая может позиционировать область связывания, в то время как K414 был выбран по причине его близости к положению 415.

Данная библиотека была отсортирована, как описано ранее, только с апикальным доменом TfR яванского макака. Обогащенный пул секвенировали после пяти раундов, и последовательности модифицированных областей идентифицированных уникальных клонов представлены в SEQ ID NO:42-59.

Следующие библиотеки были разработаны для дальнейшего изучения приемлемого разнообразия в основном связующем паратопе. Каждое из исходных положений (384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421) плюс две горячие точки (380 и 415) были индивидуально рандомизированы с кодонами NNK для генерации серии однопозиционных библиотек насыщающего мутагенеза на дрожжах. Кроме того, каждое положение было индивидуально возвращено к остатку дикого типа, и эти индивидуальные клоны отображались на дрожжах. Было отмечено, что положения 380, 389, 390 и 415 были единственными положениями, которые сохраняли существенное связывание с TfR после возвращения к остатку дикого типа (некоторое остаточное, но значительно уменьшенное связывание наблюдалось для возвращения 413 к дикому типу).

Однопозиционные библиотеки NNK сортировали в течение трех раундов относительно апикального домена TfR человека для сбора ~5% верхних связывающих агентов, а затем секвенировали по меньшей мере 16 клонов из каждой библиотеки. Результаты показывают, какие аминокислоты в каждом положении могут переноситься без значительного снижения связывания с TfR человека в контексте клона CH3C.35. Ниже приведены обобщенные данные:

Положение 380: Trp, Leu или Glu;

Положение 384: Tyr или Phe;

Положение 386: только Thr;

Положение 387: только Glu;

Положение 388: только Trp;

Положение 389: Ser, Ala или Val (хотя остаток Asn дикого типа, по-видимому, сохраняет некоторое связывание, он не проявляется после сортировки библиотеки);

Положение 390: Ser или Asn;

Положение 413: Thr или Ser;

Положение 415: Glu или Ser;

Положение 416: только Glu; и

Положение 421: только Phe.

Вышеупомянутые остатки при замене в клоне CH3C.35 в виде отдельных изменений или в комбинациях представляют разнообразие паратопов, которое сохраняет связывание с апикальным доменом TfR. Клоны, имеющие мутации в этих положениях, включают клоны, показанные в таблице 7, и последовательности доменов CH3 этих клонов представлены в SEQ ID NO:34-38, 58 и 60-90.

Пример 12. Дополнительные положения Fc, которые могут быть изменены для связывания TfR.

Дополнительные модифицированные полипептиды Fc, которые связываются с рецептором трансферрина (TfR), были получены с модификациями в альтернативных сайтах в области Fc, *например*, в следующих положениях:

положения 274, 276, 283, 285, 286, 287, 288 и 290 (клоны CH2A2);

положения 266, 267, 268, 269, 270, 271, 295, 297, 298 и 299 (клоны CH2C);

положения 268, 269, 270, 271, 272, 292, 293, 294 и 300 (клоны CH2D);

положения 272, 274, 276, 322, 324, 326, 329, 330 и 331 (клоны CH2E3); или

положения 345, 346, 347, 349, 437, 438, 439 и 440 (клоны CH3B).

Иллюстративные клоны CH3B, которые связываются с TfR, приведены в SEQ ID NO:111-115. Иллюстративные клоны CH2A2, которые связываются с TfR, приведены в SEQ ID NO:116-120. Иллюстративные клоны CH2C, которые связываются с TfR, приведены в SEQ ID NO:121-125. Иллюстративные клоны CH2D, которые связываются с TfR, приведены в SEQ ID NO:126-130. Иллюстративные клоны CH2E3, которые связываются с TfR, приведены в SEQ ID NO:131-135.

Пример 13. Способы.

Создание библиотек фагового дисплея

ДНК-матрица, кодирующая последовательность Fc человека дикого типа, была синтезирована и включена в фагмидный вектор. Фагмидный вектор содержал лидерную последовательность *ompA* или *pelB*, вставку Fc, слитую с метками эпитопа с-Мус и 6xHis (SEQ ID NO:303), и стоп-кодон янтарного цвета, за которым следует белок оболочки рIII M13.

Были созданы праймеры, содержащие трикодны «NNK» в желаемых положениях для модификаций, где N представляет собой любое основание ДНК (*т.е.* A, C, G или T), а

К представляет собой либо G, либо T. Альтернативно, использовали праймеры для «легкой» рандомизации, где смесь оснований, соответствующих 70% основанию дикого типа и 10% каждого из трех других оснований, использовались для каждого положения рандомизации. Библиотеки были созданы путем выполнения ПЦР-амплификации фрагментов области Fc, соответствующих областям рандомизации, а затем собраны с использованием концевых праймеров, содержащих сайты рестрикции *Sfi*I, затем расщеплены при помощи *Sfi*I и лигированы в фагмидные векторы. Альтернативно, праймеры использовали для проведения мутагенеза по Кункелю. Лигированные продукты или продукты по Кункелю трансформировали в электрокомпетентные клетки *E. coli* штамма TG1 (полученные от Lucigen®). Клетки *E. coli* инфицировали хелперным фагом M13K07 после выделения и выращивали в течение ночи, после чего библиотечный фаг осаждали с использованием 5% PEG/NaCl, ресуспендировали в 15% глицерине в PBS и замораживали до использования. Типичные размеры библиотеки варьировались от около 10^9 до около 10^{11} трансформантов. Димеры Fc отображались на фаге посредством спаривания между слитым с рIII Fc и растворимым Fc, не присоединенным к рIII (последний образуется из-за янтарного стоп-кодона перед рIII).

Создание библиотек дрожжевого дисплея

ДНК-матрица, кодирующая последовательность Fc человека дикого типа, была синтезирована и включена в вектор дрожжевого дисплея. Для библиотек CH2 и CH3 полипептиды Fc отображали на белке клеточной стенки Aga2p. Оба вектора содержали препро-лидерные пептиды с последовательностью расщепления Kex2 и метку эпитопа с-Мус, слитую с концом Fc.

Библиотеки дрожжевого дисплея были собраны с использованием способов, аналогичных тем, которые описаны для фаговых библиотек, за исключением того, что амплификацию фрагментов выполняли с праймерами, содержащими гомологичные концы для вектора. Свежеприготовленные электрокомпетентные дрожжи (*m. e.* штамм EBY100) электропорировали с линейаризованным вектором и вставками собранной библиотеки. Способы электропорации будут известны специалисту в данной области техники. После восстановления в селективной среде SD-CAA дрожжи выращивали до слияния и дважды разделяли, затем индуцировали экспрессию белка путем переноса в среду SG-CAA. Типичные размеры библиотеки варьировались от около 10^7 до около 10^9 трансформантов. Димеры Fc образовывали путем спаривания, смежно отображаемых мономеров Fc.

Общие способы отбора фагов

Фаговые способы были адаптированы из Phage Display: A Laboratory Manual (Barbas, 2001). Дополнительные сведения о протоколе можно получить из данной ссылки.

Способы сортировки планшетов

Антиген наносили на микротитровальные планшеты MaxiSorp® (как правило 1-10 мкг/мл) в течение ночи при 4°C. Фаговые библиотеки добавляли в каждую лунку и инкубировали в течение ночи для связывания. Лунки для микротитрования тщательно промывали PBS, содержащим 0,05% Tween® 20 (PBST), и связанный фаг элюировали, инкубируя лунки с кислотой (как правило 50 mM HCl с 500 mM KCl или 100 mM глицином, pH 2,7) в течение 30 минут. Элюированный фаг нейтрализовали с помощью 1 M Tris (pH 8) и амплифицировали с использованием клеток TG1 и хелперного фага M13/KO7, и выращивали в течение ночи при 37°C в среде 2YT, содержащей 50 мкг/мл карбенациллина и 50 мкг/мл канамицина. Титры фага, элюированного из лунки, содержащей мишень, сравнивали с титрами фага, восстановленного из лунки, не содержащей мишень, для оценки обогащения. Строгость отбора повышали за счет последующего уменьшения времени инкубации во время связывания и увеличения времени промывки и количества промывок.

Способы сортировки шариков

Антиген биотинилировали посредством свободных аминов с использованием NHS-PEG4-биотина (полученного от Pierce™). Для реакций биотинилирования использовали 3-5-кратный молярный избыток биотинового реагента в PBS. Реакции гасили при помощи Tris с последующим обширным диализом в PBS. Биотинилированный антиген иммобилизовали на покрытых стрептавидином магнитных шариках (*m.e.* M280-стрептавидиновых шариках, полученных Thermo Fisher). Библиотеки фагового дисплея инкубировали с покрытыми антигеном гранулами при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем несвязанный фаг удаляли, а шарики промывали PBST. Связанный фаг элюировали путем инкубации с 50 mM HCl, содержащим 500 mM KCl (или 0,1 M глицин, pH 2,7), в течение 30 минут, а затем нейтрализовали и размножали, как описано выше для сортировки планшетов.

После трех-пяти раундов пэннинга отдельные клоны подвергали скринингу либо путем экспрессии Fc на фаге, либо путем растворения в периплазме *E. coli*. Такие способы экспрессии будут известны специалисту в данной области. Отдельные фаговые супернатанты или периплазматические экстракты подвергали воздействию блокированных планшетов ИФА, покрытых антигеном или отрицательным контролем, и впоследствии проводили обнаружение с использованием конъюгированного с HRP козьего анти-Fc (полученного от Jackson Immunoresearch) для периплазматических экстрактов или анти-M13 (GE Healthcare) для фага, а затем проявили с помощью реагента ТМВ (полученного от Thermo Fisher). Лунки со значениями OD₄₅₀ более чем в около 5 раз

выше фона считались положительными клонами и их секвенировали, после чего некоторые клоны были экспрессированы либо как растворимый фрагмент Fc, либо слиты с фрагментами Fab.

Общие способы отбора дрожжей

Способы сортировки шариков (Магнитно-активированная сортировка клеток (MACS))

Выбор MACS и FACS выполнялся аналогично тому, как описано в Ackerman, *et al.* 2009 *Biotechnol. Prog.* 25(3), 774. Покрытых стрептавидином магнитные шарики (например, шарики, покрытые стрептавидином M-280 от ThermoFisher) метили биотинилированным антигеном и инкубировали с дрожжами (как правило 5-10-кратное разнообразие библиотеки). Несвязанные дрожжи удаляли, шарики промывали, связанные дрожжи выращивали в селективной среде и индуцировали для последующих циклов селекции.

Способы флуоресцентно-активированной сортировки клеток (FACS)

Дрожжи метили анти-с-Мус антителом для контроля экспрессии и биотинилированного антигена (концентрация варьировалась в зависимости от раунда сортировки). В некоторых экспериментах антиген был предварительно смешан со стрептавидином-Alexa Fluor[®] 647 для повышения avidности взаимодействия. В других экспериментах биотинилированный антиген обнаруживали после связывания и промывания стрептавидином-Alexa Fluor[®] 647. Синглетные дрожжи со связыванием были отсортированы с использованием сортировщика клеток FACS Aria III. Отсортированные дрожжи выращивали в селективной среде, а затем индуцировали для последующих раундов отбора.

После того, как была достигнута обогащенная популяция дрожжей, дрожжи высевали на чашки с агаром SD-CAA, выращивали отдельные колонии и индуцировали их экспрессию, а затем метили, как описано выше, для определения их склонности к связыванию с мишенью. Положительные единичные клоны впоследствии секвенировали на предмет связывания антигена, после чего некоторые клоны экспрессировали либо как растворимый фрагмент Fc, либо как слитые с фрагментами Fab.

Общие способы скрининга

Скрининг методом ИФА

Клоны отбирали из результатов пэннинга и выращивали в отдельных лунках 96-луночных планшетов с глубокими лунками. Клоны были либо индуцированы для периплазматической экспрессии с использованием среды для аутоиндукции (полученной от EMD Millipore), либо инфицированы хелперным фагом для фагового дисплея

отдельных вариантов Fc на фаге. Планшеты для ИФА покрывали антигеном, как правило в концентрации 0,5 мг/мл в течение ночи, затем блокировали 1% BSA перед добавлением фаговых или периплазматических экстрактов. После 1-часовой инкубации и отмывания несвязанного белка добавляли конъюгированное с HRP вторичное антитело (*т. е.* анти-Fc или анти-M13 для растворимого Fc или Fc, отображаемого на фаге, соответственно) и инкубировали в течение 30 минут. Планшеты снова промывали, затем проявляли реагентом TMB и гасили 2 н. серной кислотой. Поглощение при 450 нм определяли количественно с использованием устройства для считывания планшетов (BioTek®), и строили кривые связывания с использованием программного обеспечения Prism, где это было возможным. В некоторых анализах растворимый трансферрин или другой конкурент добавляли на стадии связывания, обычно в значительном молярном избытке.

Скрининг методом проточной цитометрии

Полипептиды вариантов Fc (экспрессируемые на фаге, в периплазматических экстрактах или растворимые в виде слияния с фрагментами Fab) добавляли к клеткам в 96-луночных планшетах с V-образным дном (около 100 000 клеток на лунку в PBS+1% BSA (PBSA)) и инкубировали при 4 °C в течение 1 часа. Затем планшеты центрифугировали, среду удаляли, а затем клетки промывали один раз PBSA. Клетки ресуспендировали в PBSA, содержащем вторичное антитело (как правило козье антитело против IgG человека Alexa Fluor® 647 (полученное от Thermo Fisher)). Через 30 минут планшеты вращали и среду удаляли, клетки промывали 1-2 раза PBSA, а затем планшеты считывали на проточном цитометре (*т. е.*, проточном цитометре FACSCanto™ II). Средние значения флуоресценции рассчитывали для каждого условия с помощью программного обеспечения FlowJo, а кривые связывания строили с помощью программного обеспечения Prism.

Пример 14. Липидомика и методы и масс-спектрометрии.

Приготовление проб для масс-спектрометрии

Клетки (*например*, макрофаги из костного мозга (BMDM)) тщательно промывали PBS, и виды ВМР экстрагировали метанолом с добавлением ВМР(14:0_14:0) в качестве внутреннего стандарта. После экстракции ВМР метанолом образцы перемешивали при помощи вихревой мешалки и центрифугировали при 14 000 об/мин и 4 °C в течение 20 минут. Затем супернатанты переносили во флаконы для жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии для дальнейшего анализа.

Образцы тканей взвешивали (*например*, 20 мг), а затем гомогенизировали в метаноле (200 мкл) с добавлением ВМР(14:0_14:0) с использованием гомогенизатора TissueLyser (Qiagen, Валенсия, штат Калифорния, США). Гомогенаты центрифугировали

при 14000 об/мин в течение 20 минут при 4 °С. Затем супернатанты переносили во флаконы для жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии для дальнейшего анализа.

Биологические жидкости (10 мкл) осаждали белком при помощи метанола (100 мкл), содержащем ВМР(14:0_14:0), и центрифугировали при 14000 об/мин в течение 20 минут при 4°С. Затем супернатанты переносили во флаконы для жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии для дальнейшего анализа.

Липидомические процедуры

Общие процедуры. Группы животных и сбор образцов были рандомизированы во время экстракции липидов.

Экстракция липидов и метаболитов из мочи: мочу собирали в пробирки Thermo Matrix и хранили при -80°С. Мочу размораживали на льду и центрифугировали при 1000 x g в течение 10 минут при 4°С для удаления твердых частиц. 10 мкл мочи переносили в пробирку типа Эппендорф с замком Safe-Lock объемом 2,0 мл (Eppendorf, номер по каталогу 022600044) и 200 мкл ледяного метанола МС-класса, содержащего смесь внутреннего стандарта (2 мкл на образец). Образцы перемешивали вихревым способом в течение 5 минут при 2500 об/мин. Образцы центрифугировали в течение 20 минут при 21 000 g при 4°С. Супернатант метанола переносили в стеклянные флаконы для ЖХМС в 96-луночном планшете. Образцы хранили при -80°С до прогона анализа на ЖХМС.

Экстракция липидов и метаболитов из плазмы: образцы плазмы размораживали на льду. Плазму/сыворотку (10 мкл) или мочу (20 мкл) переносили в пробирку типа Эппендорф с замком Safe-Lock объемом 2,0 мл (Eppendorf, номер по каталогу 022600044). Ледяной метанол МС-класса (200 мкл), содержащий смесь внутренних стандартов (2 мкл на образец), перемешивали вихревым способом в течение 5 минут, а затем центрифугировали в течение 20 минут при 21 000 x g при 4°С. Супернатант метанола переносили в стеклянные флаконы для ЖХМС в 96-луночные планшеты для липидомического и метаболомного анализа. Образцы хранили при -80°С до прогона анализа на ЖХМС.

Экстракция липидов и метаболитов из головного мозга: кору головного мозга лобной доли мыши (18-20 мг) переносили в пробирку типа Эппендорф с замком Safe-Lock объемом 2,0 мл (Eppendorf, номер по каталогу 022600044), которую хранили на сухом льду, содержащем 5-миллиметровый шарик из нержавеющей стали (QIAGEN, номер по каталогу 69989). Добавляли метанол МС-класса (400 мкл), содержащий смесь внутренних стандартов (2 мкл на образец). Ткани гомогенизировали с помощью TissueLyser в течение 30 секунд при 25 Гц в холодном помещении, а затем центрифугировали в течение 20 минут при 21 000 x g при 4 °С (шарик оставался в пробирке). Супернатант метанола

переносили в новые флаконы типа Эппендорф объемом 1,5 мл и оставляли при -20°C на 1 час, чтобы обеспечить дальнейшее осаждение белков. Флаконы центрифугировали в течение 20 минут при $21\,000 \times g$ при 4°C , и супернатант метанола переносили в стеклянные флаконы для ЖХМС для липидомического и метаболомного анализа. Образцы хранили при -80°C до прогона анализа на ЖХМС.

Экстракция липидов и метаболитов из СМЖ: забор СМЖ у мышей проводили пипеточным способом. СМЖ (5 мкл) добавляли к ледяному MeOH (100 мкл) МС-класса, содержащему смесь внутреннего стандарта (0,2 мкл на образец), непосредственно в стеклянных флаконах. Содержимое стеклянных флаконов со СМЖ и MeOH перемешивали вихревым способом в течение 5 минут и непосредственно запускали на ЖХМС.

Экстракция липидов и метаболитов из печени: печень (20 мг) переносили в пробирку типа Эппендорф с замком Safe-Lock объемом 2,0 мл (Eppendorf, номер по каталогу 022600044), хранили на сухом льду, содержащем 5-миллиметровый шарик из нержавеющей стали (QIAGEN, номер по каталогу 69989). Затем добавляли метанол МС-класса (400 мкл), содержащий смесь внутренних стандартов (2 мкл на образец). Ткани гомогенизировали с помощью TissueLyser в течение 30 секунд при 25 Гц (в холодном помещении) и центрифугировали в течение 20 минут при $21\,000 \times g$ при 4°C (шарик оставался в пробирке). Супернатант метанола переносили в новые флаконы типа Эппендорф объемом 1,5 мл и оставляли при -20°C на три часа, чтобы обеспечить дальнейшее осаждение белков. Флаконы центрифугировали в течение 20 минут при $21\,000 \times g$ при 4°C , и супернатант метанола переносили в стеклянные флаконы для ЖХМС для липидомического и метаболомного анализа. Образцы хранили при -80°C до прогона анализа на ЖХМС.

Жидкостная хроматография-масс-спектрометрия

Анализы ВМР выполняли с помощью жидкостной хроматографии (система Shimadzu Nexera X2, Shimadzu Scientific Instrument, Колумбия, Мэриленд, США) в сочетании с масс-спектрометрией с электрораспылением (Sciex 6500+ QTRAP, Sciex, Фремингхем, штат Массачусетс, США). Для каждого анализа 5 мкл образца вводили в колонку ВЕН с амидом $1,7 \text{ мкм}$, $2,1 \times 150 \text{ мм}$ (Waters Corporation, Милфорд, Массачусетс, США), используя скорость потока $0,40 \text{ мл/мин}$ при 55°C . Подвижная фаза А состояла из воды с 10 mM формиатом аммония + $0,1\%$ муравьиной кислотой. Подвижная фаза В состояла из ацетонитрила с $0,1\%$ муравьиной кислотой. Градиент был запрограммирован следующим образом: $0,0\text{--}1,0 \text{ мин.}$ на $95\% \text{ В}$; $1,0\text{--}7,0 \text{ мин.}$ до $50\% \text{ В}$; $7,0\text{--}7,1 \text{ мин.}$ до $95\% \text{ В}$; и $7,1\text{--}12,0 \text{ мин.}$ на $95\% \text{ В}$. Ионизацию электрораспылением проводили в режиме

отрицательных ионов с использованием следующих настроек: газовая завеса на 25; газ для соударений был установлен на средний уровень; напряжение ионного распыления на -4500; температура на уровне 600; газ источника ионов 1 на 50; газ источника ионов 2 на 60; энергия столкновения на -50, СХР на -15; DP на -60; EP на -10; время выдержки на 20 мс. Сбор данных выполняли с помощью Analyst 1.6.3 (Sciex) в режиме мониторинга множественных реакций (MRM). Виды ВМР обнаруживали с использованием параметров перехода MRM, представленных в таблице 3. Виды ВМР были количественно определены с использованием ВМР(14:0_14:0) в качестве внутреннего стандарта. Виды ВМР были идентифицированы на основании их времени удерживания и свойств MRM. Количественную оценку выполняли с использованием MultiQuant 3.02 (Sciex) после поправки на изотопное перекрытие. Виды ВМР были нормализованы либо по общему количеству белка, либо по массе ткани, либо по объему биологической жидкости. Концентрацию белка измеряли с помощью анализа с бисинхониновой кислотой (BCA) (Pierce, Рокфорд, штат Иллинойс, США).

Переходы m/z предшественника (Q1) $[M-H]^-$ и иона-продукта (Q3) использовали для измерения видов ВМР. Виды ВМР были идентифицированы по значениям Q1 и Q3 в соответствии с таблицей 3. Аббревиатуры используются в данном документе для обозначения видов с двумя боковыми цепями, где структуры боковых цепей жирных кислот указаны в скобках в формате ВМР (*например*, ВМР(18:1_18:1)). Цифры соответствуют стандартному формату обозначения жирных кислот: «количество атомов углерода жирной кислоты:количество двойных связей». Префикс «e-» используется для обозначения присутствия заместителя простого алкилового эфира, (*например*, ВМР(16:0e_18:0)), где карбонильный кислород боковой цепи жирной кислоты заменен двумя атомами водорода. Альтернативно, виды ВМР могут быть обозначены в общем по общему количеству атомов углерода:общему количеству двойных связей; виды, имеющие схожие значения, можно отличить по их значениям Q1 и Q3.

Таблица 3. Виды BMP и параметры перехода MRM

Наименование	Общее количество атомов углерода: общая ненасыщенность	Q1	Q3
BMP(14:0_14:0)	BMP(28:0)	665,5	227,2
BMP(14:0_16:0)	BMP(30:0)	693,6	255,2
BMP(14:0_16:1)	BMP(30:1)	691,6	253,2
BMP(14:0_18:0)	BMP(32:0)	721,6	283,2
BMP(14:0_18:1)	BMP(32:1)	719,6	281,2
BMP(14:0_18:2)	BMP(32:2)	717,6	279,2
BMP(14:0_18:3)	BMP(32:3)	715,6	277,2
BMP(14:0_20:1)	BMP(34:1)	747,6	309,2
BMP(14:0_20:2)	BMP(34:2)	745,6	307,2
BMP(14:0_20:3)	BMP(34:3)	743,6	305,2
BMP(14:0_20:4)	BMP(34:4)	741,6	303,2
BMP(14:0_20:5)	BMP(34:5)	739,6	301,2
BMP(14:0_22:4)	BMP(36:4)	769,6	331,2
BMP(14:0_22:5)	BMP(36:5)	767,6	329,2
BMP(14:0_22:6)	BMP(36:6)	765,6	327,2
BMP(16:0_16:0)	BMP(32:0)	721,6	255,2
BMP(16:0_16:1)	BMP(32:1)	719,6	253,2
BMP(16:0_18:0)	BMP(34:0)	749,6	283,2
BMP(16:0_18:1)	BMP(34:1)	747,6	281,2
BMP(16:0_18:2)	BMP(34:2)	745,6	279,2
BMP(16:0_18:3)	BMP(34:3)	743,6	277,2
BMP(16:0_20:1)	BMP(36:1)	775,6	309,2
BMP(16:0_20:2)	BMP(36:2)	773,6	307,2
BMP(16:0_20:3)	BMP(36:3)	771,6	305,2
BMP(16:0_20:4)	BMP(36:4)	769,6	303,2
BMP(16:0_20:5)	BMP(36:5)	767,6	301,2
BMP(16:0_22:4)	BMP(38:4)	797,6	331,2
BMP(16:0_22:5)	BMP(38:5)	795,6	329,2
BMP(16:0_22:6)	BMP(38:6)	793,6	327,2
BMP(16:1_16:1)	BMP(32:2)	717,6	253,2
BMP(16:1_18:0)	BMP(34:1)	747,6	283,2
BMP(16:1_18:1)	BMP(34:2)	745,6	281,2
BMP(16:1_18:2)	BMP(34:3)	743,6	279,2
BMP(16:1_18:3)	BMP(34:4)	741,6	277,2
BMP(16:1_20:1)	BMP(36:2)	773,6	309,2
BMP(16:1_20:2)	BMP(36:3)	771,6	307,2
BMP(16:1_20:3)	BMP(36:4)	769,6	305,2
BMP(16:1_20:4)	BMP(36:5)	767,6	303,2
BMP(16:1_20:5)	BMP(36:6)	765,6	301,2

Наименование	Общее количество атомов углерода: общая ненасыщенность	Q1	Q3
BMP(16:1_22:4)	BMP(38:5)	795,6	331,2
BMP(16:1_22:5)	BMP(38:6)	793,6	329,2
BMP(16:1_22:6)	BMP(38:7)	791,6	327,2
BMP(16:0e_14:0)	BMP(40:0)	679,5	227,2
BMP(16:0e_16:0)	BMP(32:0)	707,6	255,2
BMP(16:0e_18:0)	BMP(34:0)	735,6	283,2
BMP(16:0e_18:1)	BMP(34:1)	733,6	281,2
BMP(16:0e_18:2)	BMP(34:2)	731,6	279,2
BMP(16:0e_18:3)	BMP(34:3)	729,6	277,2
BMP(16:0e_20:3)	BMP(36:3)	757,6	305,2
BMP(16:0e_20:4)	BMP(36:4)	755,6	303,2
BMP(16:0e_20:5)	BMP(36:5)	753,6	301,2
BMP(16:0e_22:4)	BMP(38:4)	783,6	331,2
BMP(16:0e_22:6)	BMP(38:6)	779,6	327,2
BMP(16:1e_14:0)	BMP(30:1)	677,5	227,2
BMP(16:1e_16:0)	BMP(32:1)	705,6	255,2
BMP(16:1e_18:0)	BMP(34:1)	733,6	283,2
BMP(16:1e_18:1)	BMP(34:2)	731,6	281,2
BMP(16:1e_18:2)	BMP(34:3)	729,6	279,2
BMP(16:1e_18:3)	BMP(34:4)	727,6	277,2
BMP(16:1e_20:3)	BMP(36:4)	755,6	305,2
BMP(16:1e_20:4)	BMP(36:5)	753,6	303,2
BMP(16:1e_20:5)	BMP(36:6)	751,6	301,2
BMP(16:1e_22:4)	BMP(38:5)	781,6	331,2
BMP(16:1e_22:6)	BMP(38:7)	777,6	327,2
BMP(18:0_18:0)	BMP(36:0)	777,6	283,2
BMP(18:0_18:1)	BMP(36:1)	775,6	281,2
BMP(18:0_18:2)	BMP(36:2)	773,6	279,2
BMP(18:0_18:3)	BMP(36:3)	771,6	277,2
BMP(18:0_20:1)	BMP(38:1)	803,6	309,2
BMP(18:0_20:2)	BMP(38:2)	801,6	307,2
BMP(18:0_20:3)	BMP(38:3)	799,6	305,2
BMP(18:0_20:4)	BMP(38:4)	797,6	303,2
BMP(18:0_20:5)	BMP(38:5)	795,6	301,2
BMP(18:0_22:4)	BMP(40:4)	825,6	331,2
BMP(18:0_22:5)	BMP(40:5)	823,6	329,2
BMP(18:0_22:6)	BMP(40:6)	821,6	327,2
BMP(18:1_18:1)	BMP(36:2)	773,6	281,2
BMP(18:1_18:2)	BMP(36:3)	771,6	279,2
BMP(18:1_18:3)	BMP(36:4)	769,6	277,2

Наименование	Общее количество атомов углерода: общая ненасыщенность	Q1	Q3
BMP(18:1_20:1)	BMP(38:2)	801,6	309,2
BMP(18:1_20:2)	BMP(38:3)	799,6	307,2
BMP(18:1_20:3)	BMP(38:4)	797,6	305,2
BMP(18:1_20:4)	BMP(38:5)	795,6	303,2
BMP(18:1_20:5)	BMP(38:6)	793,6	301,2
BMP(18:1_22:4)	BMP(40:5)	823,6	331,2
BMP(18:1_22:5)	BMP(40:6)	821,6	329,2
BMP(18:1_22:6)	BMP(40:7)	819,6	327,2
BMP(18:2_18:2)	BMP(36:4)	769,6	279,2
BMP(18:2_18:3)	BMP(36:5)	767,6	277,2
BMP(18:2_20:1)	BMP(38:3)	799,6	309,2
BMP(18:2_20:2)	BMP(38:4)	797,6	307,2
BMP(18:2_20:3)	BMP(38:5)	795,6	305,2
BMP(18:2_20:4)	BMP(38:6)	793,6	303,2
BMP(18:2_20:5)	BMP(38:7)	791,6	301,2
BMP(18:2_22:4)	BMP(40:6)	821,6	331,2
BMP(18:2_22:5)	BMP(40:7)	819,6	329,2
BMP(18:2_22:6)	BMP(40:8)	817,6	327,2
BMP(18:3_18:3)	BMP(36:6)	765,6	277,2
BMP(18:3_20:1)	BMP(38:4)	797,6	309,2
BMP(18:3_20:2)	BMP(38:5)	795,6	307,2
BMP(18:3_20:3)	BMP(38:6)	793,6	305,2
BMP(18:3_20:4)	BMP(38:7)	791,6	303,2
BMP(18:3_20:5)	BMP(38:8)	789,6	301,2
BMP(18:3_22:4)	BMP(40:7)	819,6	331,2
BMP(18:3_22:5)	BMP(40:8)	817,6	329,2
BMP(18:3_22:6)	BMP(40:9)	815,6	327,2
BMP(18:0e_14:0)	BMP(32:0)	707,5	227,2
BMP(18:0e_16:0)	BMP(34:0)	735,6	255,2
BMP(18:0e_18:0)	BMP(36:0)	763,6	283,2
BMP(18:0e_18:1)	BMP(36:1)	761,6	281,2
BMP(18:0e_18:2)	BMP(36:2)	759,6	279,3
BMP(18:0e_18:3)	BMP(36:3)	757,6	277,2
BMP(18:0e_20:3)	BMP(38:3)	785,6	305,2
BMP(18:0e_20:4)	BMP(38:4)	783,6	303,2
BMP(18:0e_20:5)	BMP(38:5)	781,6	301,2
BMP(18:0e_22:4)	BMP(40:4)	811,6	331,3
BMP(18:0e_22:6)	BMP(40:6)	807,6	327,3
BMP(18:1e_14:0)	BMP(32:1)	705,5	227,2
BMP(18:1e_16:0)	BMP(34:1)	733,6	255,2

Наименование	Общее количество атомов углерода: общая ненасыщенность	Q1	Q3
BMP(18:1e_18:0)	BMP(36:1)	761,6	283,2
BMP(18:1e_18:1)	BMP(36:2)	759,6	281,2
BMP(18:1e_18:2)	BMP(36:3)	757,6	279,3
BMP(18:1e_18:3)	BMP(36:4)	755,6	277,2
BMP(18:1e_20:3)	BMP(38:4)	783,6	305,2
BMP(18:1e_20:4)	BMP(38:5)	781,6	303,2
BMP(18:1e_20:5)	BMP(38:6)	779,6	301,2
BMP(18:1e_22:4)	BMP(40:5)	809,6	331,3
BMP(18:1e_22:6)	BMP(40:7)	805,6	327,3
BMP(20:3_20:3)	BMP(40:6)	821,6	305,2
BMP(20:3_20:4)	BMP(40:7)	819,6	303,2
BMP(20:3_20:5)	BMP(40:8)	817,6	301,2
BMP(20:3_22:4)	BMP(42:7)	847,6	331,3
BMP(20:3_22:5)	BMP(42:8)	845,6	329,3
BMP(20:3_22:6)	BMP(42:9)	843,6	327,3
BMP(20:4_20:4)	BMP(40:8)	817,6	303,2
BMP(20:4_20:5)	BMP(40:9)	815,6	301,2
BMP(20:4_22:4)	BMP(42:8)	845,6	331,3
BMP(20:4_22:5)	BMP(42:9)	843,6	329,3
BMP(20:4_22:6)	BMP(42:10)	841,6	327,3
BMP(20:5_20:5)	BMP(40:10)	813,6	301,2
BMP(20:5_22:4)	BMP(42:9)	843,6	331,3
BMP(20:5_22:5)	BMP(42:10)	841,6	329,3
BMP(20:5_22:6)	BMP(42:11)	839,6	327,3
BMP(22:4_22:4)	BMP(44:8)	873,6	331,3
BMP(22:4_22:5)	BMP(44:9)	871,6	329,3
BMP(22:4_22:6)	BMP(44:10)	869,6	327,3
BMP(22:6_22:6)	BMP(44:12)	865,6	327,2

Пример 15. Обработка BMDMS, взятых у мышей с нокаутом *GRN*.

BMDM были получены *in vitro* из костного мозга мышей дикого типа и мышей с нокаутом *GRN* с использованием способа, аналогичного способу, описанному в Troupin et al. *J. Vis. Exp.* 2013 (81) 50966, но рекомбинантный М-КСФ был добавлен непосредственно в среду для роста клеток для индукции дифференцировки. BMDM обрабатывали в течение 72 часов 50 нМ слитыми белками димер Fc:PGRN Слияние 11 и Слияние 12 из таблицы 1 или контроль РСВ (респираторно-синцитиального вируса). Клеточные липиды экстрагировали путем добавления метанола, содержащего смесь внутренних стандартов, и численность BMP измеряли с помощью жидкостной хроматографии-масс-

спектрометрии (ЖХ-МС/МС) на Q-trap 6500 (SCIEX). Как показано на ФИГ. 13А и 13В, численность BMP(18:1_18:1) и BMP(20:4_20:4) была увеличена в BMDM, полученных от необработанных мышей с нокаутом *GRN* по сравнению с контролем дикого типа. Кроме того, в отдельных экспериментах (три технических повтора), как показано на ФИГ. 13С и 13D, общая численность BMP и BMP(18:1_18:1) снижалась в BMDM с нокаутом *GRN*, которые обрабатывали либо рекомбинантным програнулином (адипоген), либо програнулином, экспрессируемым лентивирусом.

Виды BMP, у которых была обнаружена повышенная численность BMDM, полученных от животных с нокаутом по гранулину (*GRN*), показаны в таблице 4. Виды, которые продемонстрировали особенно выраженное увеличение численности, отмечены звездочкой.

Таблица 4. Повышенное содержание видов BMP в BMDM мышей KO *GRN*

BMP
BMP(16:0_18:1)
BMP(16:0_18:2)
BMP(18:0_18:0)
BMP(18:0_18:1)
BMP(18:1_18:1)*
BMP(16:0_20:3)
BMP(18:1_20:2)
BMP(18:0_20:4)*
BMP(16:0_22:5)
BMP(20:4_20:4)*
BMP(22:6_22:6)*
BMP(20:4_20:5)
BMP(18:2_18:2)
BMP(16:0_20:4)
BMP(18:0_18:2)
BMP(18:0e_22:6)
BMP(18:1e_20:4)
BMP(20:4_22:6)*
BMP(18:0e_20:4)
BMP(18:2_20:4)
BMP(18:1_22:6)*
BMP(18:1_20:4)*
BMP(18:0_22:6)*

Пример 16. Обработка мышей KO *GRN* для сохранения фенотипов.

Слияние 11 и Слияние 12 из таблицы 1 вводили *через* хвостовую вену мышам ДТ *GRN* и мышам KO *GRN*, чтобы определить, могут ли периферические фенотипы и фенотипы KO *GRN* КО ЦНС быть спасены после однократной инъекции 50 мг/кг.

Материалы и методы

Животные: Мыши, использованные для этого исследования, были получены от JAX Laboratories и состояли из 21 мыши KO *GRN* (n = 12 самцов, n = 9 самок) и 10 мышей ДТ *GRN* (n = 5 самцов, n = 5 самок) в возрасте 3-5 месяцев (таблица 5). Животных содержали в стандартных условиях вивария с неограниченным доступом к пище и воде по меньшей мере за 7 дней до начала исследования.

Таблица 5. Дизайн исследования/экспериментальные группы

Генотип	Белок	Временная точка (ч)	Кол-во групп
GRN KO	Носитель	0,5, 24, 48, 96	4
	Носитель	0,5, 24	4
	Слияние 11	0,5, 24, 48, 96	5
	Слияние 11	0,5, 24	4
	Слияние 12	0,5, 24, 48, 96	4
ДТ	Носитель	0,5, 24, 48, 96	5
	Носитель	0,5, 24	5

Распределение животных по экспериментальным группам: мышей распределяли поровну в каждой экспериментальной группе для учета различий по пометам, полу и возрасту.

Состав: слитые белки димер Fc:PGRN Слияние 11 и Слияние 12 использовали в концентрации 5,05 мг/мл и 4,90 мг/мл солевого раствора, соответственно.

Общие процедуры: Условия эксперимента меняли при сборе тканей. Группы животных и сбор образцов были рандомизированными.

Прижизненные процедуры: поднижнечелюстной забор крови выполняли с использованием 3-миллиметровых ланцетов (ланцеты для животных GoldenRod). Сбор плазмы. Кровь собирали в пробирки с ЭДТА (Sarstedt Microvette 500 K3E, номер по каталогу 201341102) и медленно переворачивая 10 раз. Для небольших объемов крови (<100 мкл) кровь собирали в пробирки с ЭДТА капилляром (Sarstedt Microvette 100 K3E, номер по каталогу 201278100). Пробирки с ЭДТА сразу же отправляли на хранение в холодильнике до приготовления плазмы. Время от хранения до приготовления не превышало 1 часа. Время сбора и время обработки соблюдались последовательно. Пробирки центрифугировали при 12700 об/мин в течение 7 минут при 4 °C. Плазму (верхний слой) переносили в пробирки с матрицей объемом 0,6 мл с резиновым уплотнением. Пробирки с матрицей быстро замораживали на сухом льду перед переносом до -80°C. Сбор мочи: Мочу собирали, удерживая мышей на пластиковом блюде весов, в результате чего большинство из них мочились в блюдо весов. Мочу собирали при помощи пипетки р200, переносили в пробирки с матрицей объемом 0,6 мл с резиновым уплотнением. Пробирки с матрицей быстро замораживали на сухом льду перед переносом до -80°C.

Процедуры сбора жидкостей/тканей после умерщвления: Животных глубоко анестезировали *посредством* внутривенной (в/в) инъекции 2,5% авертина, а затем ткани собирали в порядке, описанном ниже:

Образцы, собранные перед внутрисердечной перфузией: Сбор плазмы: Кровь собирали *посредством* сердечной пункции с использованием туберкулинового шприца Тегито объемом 1 мл, прикрепленного к игле 25 калибра (номер по каталогу SS-01T2516) (без предварительной обработки ЭДТА). Затем иглу отсоединяли, кровь переносили в пробирки с ЭДТА (Sarstedt Microvette 500 K3E, номер по каталогу 201341102) и медленно переворачивая 10 раз. После этой процедуры применение способов после сбора было продолжено, как описано выше в разделе «Прижизненные процедуры». Забор спинномозговой жидкости: три мышечных слоя на задней части шеи были отделены небольшими ножницами и щипцами, а область, окружающую выявленную большую цистерну, прижигали для предотвращения загрязнения кровью, а мембрану очищали с помощью ватной палочки и PBS. Мембрану высушивали, и большую цистерну прокалывали кончиком иглы для инсулинового шприца 28 ½ калибра. Затем пипетку р20 быстро помещали на только что проколотое отверстие, и отбирали СМЖ в наконечник пипетки. СМЖ помещали в пробирку типа Эппендорф Lo-bind объемом 0,5 мл и центрифугировали при 12 700 об/мин в течение 7 минут при 4°C. Супернатант СМЖ переносили в пробирку типа Эппендорф Lo-bind объемом 0,5 мл и быстро замораживали на сухом льду перед переносом до -80°C.

Для образцов, собранных после внутрисердечной перфузии, животным проводили транскардиальную перфузию в течение 5 минут ледяным PBS с использованием перистальтического насоса (Gilson Inc. Minipuls Evolution F110701) при скорости потока 5 мл/мин. Для тканей, которые можно рассечь и предварительно взвесить во время сбора, образцы помещали непосредственно в пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл. Ткани собирали в следующем порядке: Печень (после перфузии): около 150 мг печени собирали в пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл. Пробирки типа Эппендорф быстро замораживали на сухом льду перед переносом до -80°C. Глаз: были удалены оба глаза, удалены мышцы и зрительный нерв, а глаза помещены в одну пробирку типа Эппендорф объемом 1,5 мл. Пробирки типа Эппендорф быстро замораживали на сухом льду перед переносом до -80 °C. Головной мозг: правое полушарие без обонятельной луковицы и мозжечка собирали и взвешивали перед помещением в пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл. Пробирки типа Эппендорф быстро замораживали на сухом льду перед переносом до -80°C.

Как показано на фиг. 14-20, было обнаружено, что введение слитых белков димер

Fc:PGRN Слияние 11 и Слияние 12 повышает и восстанавливает уровни ВМР в печени, плазме, моче, спинномозговой жидкости и головном мозге.

Пример 17. Слитые белки, проникающие через ГЭБ.

Слияние 11 и Слияние 12 из таблицы 1 вводили *через* хвостовую вену мышам КО *GRN* (Jackson Laboratory, инвентарный номер 013175), скрещенным с мышами hTfR KI (мыши КО *GRN*/hTfR.KI), чтобы проверить их способность проникать через ГЭБ. Описание мышей KI hTfR можно найти в международной патентной публикации № WO2018152285. Для получения мышей КО *GRN*/hTfR.KI в первом раунде селекции мышей, гетерозиготных по *GRN* (*GRN* HET), скрещивали с гомозиготными мышами KI TfR^{ms/hu} (TfR^{ms/hu}.KI HOM) для получения потомства *GRN* HET x TfR^{ms/hu}.KI HET. Затем мышей *GRN* HET x TfR^{ms/hu}.KI HET скрещивали с мышами TfR^{ms/hu}.KI HOM для получения потомства *GRN* HET x TfR^{ms/hu}.KI HOM во втором раунде. В третьем и последнем раунде селекции мышей *GRN* HET x TfR^{ms/hu}.KI HOM скрещивали с мышами *GRN* HET x TfR^{ms/hu}.KI HOM для получения конечных мышей *GRN* КО x TfR^{ms/hu}.KI HOM, которые использовали в данном исследовании.

Мышам *GRN* КО/hTfR.KI в возрасте 2-3 месяца вводили дозу 50 мг/кг внутривенно *через* хвостовую вену либо стерильный физиологический раствор (носитель), либо Слияние 7, Слияние 11 или Слияние 12 (Таблица 8). Через 24 часа после обработки мышам проводили седацию авертином и выполняли пункцию сердца для сбора цельной крови для выделения плазмы. Животным выполняли транскардиальную перфузию охлажденным 1X PBS со скоростью 5 мл/мин в течение 5-8 минут или до тех пор, пока печень не очистилась от крови. Проводили забор части печени массой 100 мг, левого полушария головного мозга и немедленно замораживали на сухом льду.

Таблица 8. Дизайн исследования/экспериментальные группы

Молекула	Клеточная линия	Генотип	Доза (мг/кг)	Временная точка	Кол-во групп	Материал (мг)
Солевой раствор	Н/п	TfR.KI	Н/П	-3 д, 1 д*	6	Н/П
Солевой раствор	Н/П	<i>GRN</i> КО/TfR.KI	Н/П	-3 д, 1 д*	5	Н/П
Слияние 11	НЕК	<i>GRN</i> КО/TfR.KI	50	-3 д, 1 д*	5	18
Слияние 12	НЕК	<i>GRN</i> КО/TfR.KI	50	-3 д, 1 д*	5	18
Слияние 7	НЕК	<i>GRN</i> КО/TfR.KI	50	-3 д, 1 д*	4	18

Образцы тканей взвешивали и гомогенизировали в 10-кратном объеме по массе буфера для лизиса клеток (Cell Signaling Technologies; 20 mM Tris-HCl pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM Na₂ЭДТА, 1 mM EGTA, 1% Triton, 2,5 mM натрия пирогосфат, 1 mM бета-глицерогосфат, 1 mM Na₃VO₄ и 1 мкг/мл лейпептина) с добавлением 1X ингибитора протеазы (Roche) и 1X ингибитора фосфатазы (Roche). Образцы гомогенизировали с использованием TissueLyzer с металлическими шариками диаметром 3 мм в течение 2×3 мин при 29 Гц. После гомогенизации образцы центрифугировали на максимальной скорости на настольной центрифуге в течение 20 минут при 4 °C. Супернатант переносили в новые пробирки, и проводили анализ ИФА на Fc-PGRN (ИФА для захвата Fc и обнаружения PGRN) и анализ ИФА на Fc-Fc (ИФА для захвата Fc и обнаружения Fc) с использованием этих образцов.

Данные, представленные на ФИГ. 21А-21С показывают, что Слияние 11 и Слияние 12 были способны проникать через ГЭБ в головном мозге мышей КО *GRN/hTfR.KI*.

Таблица 6. Модификации домена СНЗ

Имя клона	Группа	384	385	386	387	388	389	390	391	...	413	414	415	416	417	418	419	420	421
Дикий тип	н/д	N	G	Q	P	E	N	N	Y	...	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N
1		L	G	L	V	W	V	G	Y	...	A	K	S	T	W	Q	Q	G	W
2		Y	G	T	V	W	S	H	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	Y
3		Y	G	T	E	W	S	Q	Y	...	E	K	S	D	W	Q	Q	G	H
4		V	G	T	P	W	A	L	Y	...	L	K	S	E	W	Q	Q	G	W
17	2	Y	G	T	V	W	S	K	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	F
18	1	L	G	H	V	W	A	V	Y	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
21	1	L	G	L	V	W	V	G	Y	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
25	1	M	G	H	V	W	V	G	Y	...	D	K	S	T	W	Q	Q	G	W
34	1	L	G	L	V	W	V	F	S	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
35	2	Y	G	T	E	W	S	S	Y	...	T	K	S	E	W	Q	Q	G	F
44	2	Y	G	T	E	W	S	N	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	F
51	1/2	L	G	H	V	W	V	G	Y	...	S	K	S	E	W	Q	Q	G	W
3.1-3	1	L	G	H	V	W	V	A	T	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.1-9	1	L	G	P	V	W	V	H	T	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.2-5	1	L	G	H	V	W	V	D	Q	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.2-19	1	L	G	H	V	W	V	N	Q	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W
3.2-1	1	L	G	H	V	W	V	N	F	...	P	K	S	T	W	Q	Q	G	W

Таблица 7. Дополнительные модификации домена СНЗ

Имя клона	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423
Дикий тип	A	V	E	W	E	S	N	G	Q	P	E	N	N	Y	K	T	V	D	K	S	R	W	Q	Q	G	N	V	F
35.20.1	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.2	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.3	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.4	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.5	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.20.6	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.1	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.2	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.3	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.4	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.5	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.a.6	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.1	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.2	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.3	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.4	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.5	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.23.6	.	.	.	.	.	.	F	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.1	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.2	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.3	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.4	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.5	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	A	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.24.6	.	.	W	.	.	.	F	.	T	E	W	V	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17. 1	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17. 2	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17. 3	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17. 4	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	S	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17. 5	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	A	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.21.17. 6	.	.	L	.	.	.	F	.	T	E	W	V	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35,20	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35,21	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35,22	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	.	E	.	.	.	.	F	.	.
35,23	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35,24	.	.	W	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.

35.21.17	.	.	L	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	S	.	.	.	T	.	E	E	.	.	.	.	F	.	.
35.N390	.	.	.	.	.	.	Y	.	T	E	W	S	.	.	.	.	T	.	.	E	.	.	.	.	F	.	.

Следует понимать, что описанные в данном документе примеры и варианты осуществления приведены исключительно в иллюстративных целях, а различные связанные с ними модификации или изменения станут очевидны для специалистов в данной области техники, и подразумевается, что они включены в суть и сферу действия этой заявки и объема прилагаемой формулы изобретения. Последовательности номеров доступа последовательностей, процитированные в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки.

НЕФОРМАЛЬНЫЙ СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
1	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc человека дикого типа положения 231-447 в соответствии с индексной нумерацией EU
2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK	Последовательность домена CH2 положения 231-340 в соответствии с индексной нумерацией EU
3	GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность домена CH3 Положения 341-447 в соответствии с индексной нумерацией EU
4	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GLVWVGYSKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVAKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.1
5	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTVWSHYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVSKSEWQQGYV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.2
6	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSQYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVESDWQQGHV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
7	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESV GTPWALYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVLKSEWQQGWV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.4
8	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTVWSKYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVSKSEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.17
9	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GHVWAVYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.18
10	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GLVWVGYYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.21
11	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESM GHVWVGYYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.25
12	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GLVWVFSKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.34
13	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35
14	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVSKSEWQQGFVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.44

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
15	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GHVWVGYSKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKSEWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.51
16	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GHVWVATKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3.1-3
17	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GPVWVHTKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3.1-9
18	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GHVWVDQKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3.2-5
19	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GHVWVNQKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3.2-19
20	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GHVWVNFKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.3.2-1
21	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESL GHVWAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант клона CH3C.18
22	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESL GHVWAVYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGWVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант клона CH3C.18

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
23	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVYWESL GHVWAVYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант клона CH3C.18
24	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GHVWAVYQTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант клона CH3C.18
25	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GHVWAVYFTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант клона CH3C.18
26	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GHVWAVYHTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Вариант клона CH3C.18
27	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESL GHVWAVYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.13
28	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GHVWAVYQTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.14
29	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESL GHVWAVYQTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.15
30	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESL GHVWVNQKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.16

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
31	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESL GHVWVNQQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.17
32	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESL GHVWVNQQTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVPKSTWQQGW VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.18
33	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESY GTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.19
34	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20
35	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESY GTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21
36	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESY GTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.22
37	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23
38	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESY GTEWSNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
39	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNRYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.N163
40	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSSYQTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVF SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.K165Q
41	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNRYQTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.N163. K165Q
42	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVF SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.1
43	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFVF SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.2
44	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVF SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.3
45	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTGEWQQGFVF SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.4
46	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVF SCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.5

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
47	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVF SCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.6
48	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVF TCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.7
49	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVF TCGVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.8
50	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVF ECWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.9
51	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVF KCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.10
52	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTPEEWQQGFVF KCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.11
53	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREEWQQGFVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.12
54	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWVESY GTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTGEWQQGFVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.13

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
55	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWE SYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREETWQ QGFVFTCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.14
56	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWE SYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTGEEWQ QGFVFTCWVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.15
57	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWE SYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTREETWQ QGFVFTCGVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.16
58	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWE SYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQ QGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17
59	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWE SYGTEWSSYRTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQ QGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.18
60	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES FSGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQ QGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1
61	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES YSGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQ QGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.2
62	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES YSGTEWVSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQ QGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.3

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
63	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.4
64	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWASYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.5
65	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWVSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.6
66	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESF GTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a.1
67	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESY GTEWASYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a.2
68	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESY GTEWVSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a.3
69	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESY GTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a.4
70	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESF GTEWASYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a.5

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
71	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESEF GTEWVSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.a.6
72	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWSNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.1
73	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2
74	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3
75	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4
76	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWANYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.5
77	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWVNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.6
78	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESEF GTEWSNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHREALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.1

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
79	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESEY GTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.2
80	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESEY GTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.3
81	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESEY GTEWSNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.4
82	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESEF GTEWANYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.5
83	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVWWESEF GTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.24.6
84	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESF GTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.1
85	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWASYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2
86	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWVSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.3

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
87	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVSKEEWQQGFVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.4
88	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESF GTEWASYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.5
89	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVLWESF GTEWVSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.6
90	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKSEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.N390
91	EPKSCDKTHTCPPCP	Аминокислотная последовательность шарнирной области IgG1 человека
92	MMDQARSASFNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNHSEM KLAVDEEENADNNTKANVTKPKRCSGSICYGTIAVIVFF LIGFMIGYLG YCKGVEPKTECERLAGTESPVREEPGEDFP AARRLYWDDLKRKLSEKLDSTDFGTIKLLNENSYPRE AGSQKDENLALYVENQFREFKLSKVWRDQHFVKIQVK DSAQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGK LVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVAN AESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPY TPGFPSFNHTQFPSPRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNME GDCPSDWKTDSTCRMVTSSESKNVKLTVSNVLKEIKILNI FGVIKGFVEPDHYVVVGAQRDAWGPAAKSGVGTALL LKLAQMFSDMVLKDGFPQRSIIIFASWSAGDFGSGVATE WLEGYLSSLHLKAFTYINLDKAVLGTSNFKVSASPLLYT LIEKTMQNVKHPVTGQFLYQDSNWASKVEKLTLDNAAF PFLAYSGIPAVSFCFCEDTDYPYLGTTMDTYKELIERIPEL NKVARAAAEVAGQFVIKLT HDVELNLDYERYNSQLLSF VRDLNQYRADIKEMGLSLQWLYSARGDFFRATSRLTTD FGNAEKTDRFVMKKLNDRVMRVEYHFLSPYVSPKESPF RHVFWGSGSHTLPALLENLKLKQNNGAFNETLFRNQL ALATWTIQGAANALSGDVWDIDNEF	Белок рецептора трансферрина 1 (TFR1) человека

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
93	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутацией типа «выступа»
94	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWWE SYGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями типа «выступа» и LALA
95	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями типа «выступа» и YTE
96	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWWE SYGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями типа «выступа», LALA и YTE
97	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «впадины»
98	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «впадины» и LALA
99	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «впадины» и YTE
100	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «впадины», LALA и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
101	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями типа «впадины»
102	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями типа «впадины» и LALA
103	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями типа «впадины» и YTE
104	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVWWESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями типа «впадины», LALA и YTE
105	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «выступа»
106	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «выступа» и LALA
107	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «выступа» и YTE
108	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Последовательность Fc с мутациями типа «выступа», LALA и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
109	DKTHTCPPCP	Часть шарнирной последовательности IgG1 человека (частичный шарнир)
110	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVWVESYGTWSSYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21 с мутациями типа «выступа» и LALA, и часть шарнирной последовательности IgG1 человека
111	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRFDYVTTLPSPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFDLSLSPGK	Клон CH3B.1
112	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRFDMVTTLPSPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFDLSLSPGK	Клон CH3B.2
113	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRFEYVTTLPSPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFDLSLSPGK	Клон CH3B.3
114	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRFEMVTTLPSPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFDLSLSPGK	Клон CH3B.4
115	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRFELVTTLPSPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYGFDLSLSPGK	Клон CH3B.5

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
116	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVEFIWYVDGVDVRYEWQLPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2A2.1
117	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVGFVWYVDGVPVSWEWYWPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2A2.2
118	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFDWYVDGVMVRREWHRPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2A2.3
119	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVSFEWYVDGVPVRWEWQWPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2A2.4
120	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVAFTWYVDGVPVRWEWQNPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2A2.5
121	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDPQTTPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2C.1
122	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDPPSPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSNYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2C.2
123	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDPQTTPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSNYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2C.3

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
124	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVFRGPPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYHDYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2C.4
125	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDPQTVPWEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYYSNYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2C.5
126	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSVPPRMVKFNWYVDGVEVHNAKTKSLTSQHNSTVRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2D.1
127	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSVPPWMVKFNWYVDGVEVHNAKTKSLTSQHNSTVRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2D.2
128	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDMWEYVKFNWYVDGVEVHNAKTKPWVKQLNSTWRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2D.3
129	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDDWTWVKFNWYVDGVEVHNAKTKPWIAQPNSTWRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2D.4
130	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDDWEWVKFNWYVDGVEVHNAKTKPWKLQLNSTWRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2D.5
131	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPWVWFYWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCSVNNIALWWSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2E3.1

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
132	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PVVGFRWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCRVNSALTWKIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2E3.2
133	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PVVGFRWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCRVNSALSWSRIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2E3.3
134	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PIVGFRWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCRVNSALRWRIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2E3.4
135	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PAVGFEWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVFNWALDWVIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH2E3.5
136	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWES YGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17 с мутациями типа «выступа» и LALA
137	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESF GTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутацией типа «выступа»
138	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES FGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями типа «выступа» и LALA
139	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES FGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями типа «выступа» и LALAPG

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
140	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями типа «выступа» и YTE
141	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES FGTEWSSYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями типа «выступа», LALA и YTE
142	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES FGTEWSSYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями типа «выступа», LALAPG и YTE
143	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT V LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями типа «впадины»
144	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES FGTEWSSYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями типа «впадины» и LALA
145	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES FGTEWSSYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями типа «впадины» и LALAPG
146	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT V LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESFGTEWSSYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями типа «впадины» и YTE
147	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES FGTEWSSYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями типа «впадины», LALA и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
148	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES FGTEWSSYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.20.1 с мутациями типа «впадины», LALAPG и YTE
149	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутацией типа «выступа»
150	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «выступа» и LALA
151	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «выступа» и LALAPG
152	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «выступа» и YTE
153	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «выступа», LALA и YTE
154	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «выступа», LALAPG и YTE
155	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «впадины»

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
156	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «впадины» и LALA
157	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «впадины» и LALAPG
158	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «впадины» и YTE
159	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «впадины», LALA и YTE
160	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWANYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «впадины», LALAPG и YTE
161	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYITLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWVNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутацией типа «выступа»
162	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWVNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступа» и LALA
163	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWVNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступа» и LALAPG

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
164	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESYGT EWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступа» и YTE
165	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступа», LALA и YTE
166	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «выступа», LALAPG и YTE
167	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT V LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE P QVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES Y GT EWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадины»
168	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадины» и LALA
169	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадины» и LALAPG
170	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT V LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE P QVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES Y GT EWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадины» и YTE
171	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWVNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадины», LALA и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
172	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWVNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.3 с мутациями типа «впадины», LALAPG и YTE
173	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутацией типа «выступа»
174	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступа» и LALA
175	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступа» и LALAPG
176	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступа» и YTE
177	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступа», LALA и YTE
178	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVSKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «выступа», LALAPG и YTE
179	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVSKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадины»

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
180	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадины» и LALA
181	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадины» и LALAPG
182	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадины» и YTE
183	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадины», LALA и YTE
184	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVSKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.4 с мутациями типа «впадины», LALAPG и YTE
185	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESY GTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутацией типа «выступа»
186	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWES YGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «выступа» и LALA
187	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWES YGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «выступа» и LALAPG

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
188	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «выступа» и YTE
189	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «выступа», LALA и YTE
190	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «выступа», LALAPG и YTE
191	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «впадины»
192	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «впадины» и LALA
193	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «впадины» и LALAPG
194	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «впадины» и YTE
195	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «впадины», LALA и YTE

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
196	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVLWES YGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «впадины», LALAPG и YTE
197	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутацией типа «выступа»
198	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступа» и LALA
199	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступа» и LALAPG
200	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступа» и YTE
201	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступа», LALA и YTE
202	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «выступа», LALAPG и YTE
203	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадины»

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
204	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадины» и LALA
205	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадины» и LALAPG
206	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESY GTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGFV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадины» и YTE
207	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадины», LALA и YTE
208	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES YGTEWSNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVTKEEWQQGF VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23 с мутациями типа «впадины», LALAPG и YTE
209	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVT KEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «выступа» и LALA, и часть шарнирной последовательн ости IgG1 человека
210	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVT KEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «выступа» и LALA, и часть шарнирной последовательн ости IgG1 человека

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
211	MWTLVSWVALTAGLVAGTRCPDGQFCPVACCLDPGGA SYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFT VSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQR SGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSGWCCPMP QASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSSV MCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYG CCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTD LLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGC CPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPW MEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTS GEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSE IVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSL GGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEK EVVSAQPATFLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCR DNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKC LRREAPRWDAPLRDPALRQLL	преждевременно созревший полипептид програнулина (PGRN)
212	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHL LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQFEC PDFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF CDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHV GKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLL	зрелый полипептид PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
213	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»-(G ₄ S) ₂ -PGRN
214	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»-G ₄ S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
215	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN
216	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA-G ₄ S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
217	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALAPG-(G ₄ S) ₂ -PGRN
218	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRHLGGPCQVDAHCSAGHSCFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALAPG-G ₄ S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
219	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARS PHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LS-(G ₄ S) ₂ -PGRN
220	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARS PHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LS-G ₄ S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
221	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSRGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и мутациями LS-(G4S) ₂ -PGRN
222	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSRGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины», мутациями LALA и LS-G4S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
223	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSRGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAP AHL SLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины», LALAPG и LS-(G ₄ S) ₂ -PGRN
224	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSRGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAP AHL SLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины», мутациями LALAPG и LS-G ₄ S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
225	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELP SGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDSGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «впадины»
226	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELP SGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «впадины»

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
227	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELP SGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPPV L DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA
228	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELP SGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALA

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
229	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELP SGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLG GGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV L DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALAPG
230	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELP SGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLG GGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLSCAVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «впадины» и LALAPG

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
231	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDSGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fe с мутациями типа «впадины» и LS
232	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLS LSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fe с мутациями типа «впадины» и LS

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
233	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fe с мутациями типа «впадины», LALA и LS
234	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSL SLSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fe с мутациями типа «впадины», LALA и LS

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
235	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQRSNNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSGGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAP AHL SLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLSCAVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV L DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «впадины», LALAPG и LS
236	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQRSNNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSGGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAP AHL SLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLSCAVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKS LSLSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «впадины», LALAPG и LS

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
237	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа»-(G ₄ S) ₂ -PGRN
238	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа»-G ₄ S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
239	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа» и LALA-(G ₄ S) ₂ -PGRN
240	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа» и LALA-G ₄ S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
241	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGSGGGSTRCPDGGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа» и LALAPG-(G ₄ S) ₂ -PGRN
242	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSTRCPDGGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа» и LALAPG-G ₄ S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
243	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSTRCPDQGFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSRGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAP AHL SLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARS PHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа» и LS-(G ₄ S) ₂ -PGRN
244	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSTRCPDQGFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSRGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAP AHL SLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARS PHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа» и LS-G ₄ S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
245	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSRGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа», LALA и LS-(G ₄ S) ₂ -PGRN
246	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSRGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа», LALA и LS-G ₄ S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
247	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSRGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDQALKRDPVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа», LALAPG и LS-(G ₄ S) ₂ -PGRN
248	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGKGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQSRGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLP AQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGPHQVPWMEKAPAHLSLPDQALKRDPVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGVKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «выступа», LALAPG и LS-G ₄ S-PGRN

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
249	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSVMCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCPDPGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «выступа»
250	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSVMCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCPDPGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «выступа»

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
251	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQRSNNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFC HDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «выступа» и LALA
252	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQRSNNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSGWCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFC HDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «выступы» и LALA

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
253	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNH YTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fe с мутациями типа «выступа» и LALAPG
254	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fe с мутациями типа «выступы» и LALAPG

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
255	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQRSNNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSGGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fe с мутациями типа «выступа» и LS
256	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQRSNNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSGGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVLHEALHSHYTQKSL SLSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fe с мутациями типа «выступа» и LS

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
257	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «выступа», LALA и LS
258	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQSGNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFC DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSV MCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCP DGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKS LSLSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «выступа», LALA и LS

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
259	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQRSNNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSGGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSVMCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHY TQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ - частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «выступа», LALAPG и LS
260	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLSRH LGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDG HHCCPRGFHCSADGRSCFQRSNNNSVGAIQCPDSQFECF DFSTCCVMVDGSGGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAF DLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSSVMCPD ARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCP QDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDM EVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIIHCCPA GFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDPQALKR DVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQ HCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHP RDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCED RQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVG VKDVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGV CADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPAL RQLLGGGGSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQK SLSLSPGK	PGRN-G ₄ S- частичный шарнир- полипептид Fc с мутациями типа «выступа», LALAPG и LS
261	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир- последовательн ость Fc с мутациями типа «выступа»

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
262	DKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-последовательность Fc с мутациями типа «выступа» и LALA
263	DKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-последовательность Fc с мутациями типа «выступа» и LALAPG
264	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-последовательность Fc с мутациями типа «выступа» и LS
265	DKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-последовательность Fc с мутациями типа «выступа», LALA и LS
266	DKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-последовательность Fc с мутациями типа «выступа», LALAPG и LS
267	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-последовательность Fc с мутациями типа «впадины»
268	DKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-последовательность Fc с мутациями типа «впадины» и LALA

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
269	DKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-последовательность Fc с мутациями типа «впадины» и LALAPG
270	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-последовательность Fc с мутациями типа «впадины» и LS
271	DKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-последовательность Fc с мутациями типа «впадины», LALA и LS
272	DKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-последовательность Fc с мутациями типа «впадины», LALAPG и LS
273	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-CH3C.35.21.17 Fc типа «выступа»

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
274	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGSTRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDQPALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-CH3C.35.21.17 Fc типа «выступа»-(G ₄ S) ₂ -PGRN
275	TRCPDGQFCPVACCLDPGGASYSCCRPLLDKWPTTLRHLGGPCQVDAHCSAGHSCIFTVSGTSSCCPFPEAVACGDGHHCCPRGFHCSADGRSCFQRSGNNSVGAIQCPDSQFECPDFSTCCVMVDGSWGCCPMPQASCCEDRVHCCPHGAFCDLVHTRCITPTGTHPLAKKLPAQRTNRAVALSSVMCPDARSRCPDGSTCCELPSGKYGCCPMPNATCCSDHLHCCPQDTVCDLIQSKCLSKENATTDLLTKLPAHTVGDVKCDMEVSCPDGYTCCRLQSGAWGCCPFTQAVCCEDHIHCCPAGFTCDTQKGTCEQGP HQVPWMEKAPAHLSLPDQPALKRDVPCDNVSSCPSSDTCCQLTSGEWGCCPIPEAVCCSDHQHCCPQGYTCVAEGQCQRGSEIVAGLEKMPARRASLSHPRDIGCDQHTSCPVGQTCCPSLGGSWACCQLPHAVCCEDRQHCCPAGYTCNVKARSCEKEVVSAQPATFLARSPHVGKDVCEGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFRCAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLLGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PGRN-(G ₄ S) ₂ -частичный шарнир-CH3C.35.21.17 Fc типа «выступа»
276	GGGGSGGGGS	Полипептидный линкер
277	GGGGS	Полипептидный линкер

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
278	MWTLVSWVALTAGLVAG	Сигнальная последовательность програнулина
279	DVECGEGHFCHDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCA DRRHCCPAGFRCAARGTKCL	Гранулин Е (аминокислоты 518-573 SEQ ID NO:211)
280	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVD KSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGG GSGGGGSKEVVSAPATFLARSPHVGVDVECGEGHFC HDNQTCCRDNRQGWACCPYRQGVCCADRRHCCPAGFR CAARGTKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL	Частичный шарнир-полипептид Fc с мутациями типа «впадины»(G ₄ S) 2-слияние гранулина Е (аминокислоты 497-593 SEQ ID NO:211)
281	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVT KEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «выступа»
282	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVT KEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «выступа» и LALAPG
283	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVT KEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «выступа» и LS
284	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVT KEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «выступа», LALA и LS
285	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESYGTEWANYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVT KEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.23.2 с мутациями типа «выступа», LALAPG и LS

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
286	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «выступа»
287	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «выступа» и LALAPG
288	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «выступа» и LS
289	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «выступа», LALA и LS
290	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWASYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.21.17.2 с мутациями типа «выступа», LALAPG и LS
291	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.21.17 с мутациями типа «выступа» и LALA
292	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.21.17 с мутациями типа «выступа» и LALAPG
293	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.21.17 с мутациями типа «выступа» и LS

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
294	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.21.17 с мутациями типа «выступа», LALA и LS
295	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVLWESYGTEWSSYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVTKEEWQQGFVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK	Частичный шарнир-клон CH3C.35.21.17 с мутациями типа «выступа», LALAPG и LS
296	AQNSVIIVDKNGRLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAE SLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSSESKNVKLTVSN	Вставка апикального домена белка рецептора трансферрина человека 1 (TFR1)
297	AQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAE SLNAIGVLIYMDQTKFPIVKADLSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSN	Апикальный домен TfR <i>Macaca mulatta</i> (макака-резус) (эталонная последовательность NCBI NP_001244232.1); имеет 95% идентичности с апикальным доменом нативного TfR человека
298	AQNSVIIVDKNGSLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLVHANFGTKKDFEDLHTPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAE SLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLGTGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTVSRAAAEKLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSSESKNVKLTVSN	Апикальный домен TfR шимпанзе (эталонная последовательность NCBI XP_003310238.1); имеет 98% идентичности с апикальным доменом нативного TfR человека

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
299	AQNSVIIVDKNGGLVYLVENPGGYVAYSKAATVTGKLV HANFGTKKDFEDLDSPVNGSIVIVRAGKITFAEKVANAE SLNAIGVLIYMDQTKFPIVKADLSFFGHAHLGTGDPYTP GFPSFNHTQFPPSQSSGLPNIPVQTISRAAAEKLFGNMEG DCPSDWKTDSTCKMVTSENKSVKLTVSN	Апикальный домен Tfr <i>Macaca</i> <i>fascicularis</i> (яванского макака) (эталонная последователь- ность NCBI XP_005545315); имеет 96% идентичности с апикальным доменом нативного Tfr человека

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
300	<i>MMDQARSAFSNLFGGEPLSYTRFSLARQVDGDNSHVEMKL</i> <i>AADDEENADNNMKASVRKPKRFNGRLCFAAIALVIFFLIG</i> FMSGYLG<i>YCKRVEQKEECVKLAETEETDKSETMETED</i> <i>VPTSSRLYWADLKTLLSEKLNSIEFADTIKQLSQNTYTTPR</i> <i>EAGSQKDESLAYYIENQFHEFKFSKVWRDEHYVKIQVK</i> SSAQNSVIIVDKNGRLVYL<i>VENPGGYVAYS</i>KAATVTG <u>KL</u><i>VHANFGTKKDFEDLYTPVNGSIVIVRAGKITFAEK</i> <u>VANAESLNAIGVLIYMDQTKFPIVNAELSFFGHAHLG</u> <u>TGDPYTPGFPSFNHTQFPPSRSSGLPNIPVQTISR</u><u>AAAE</u> <u>KLFGNMEGDCPSDWKTDSTCRMVTSESKNVKLT</u><u>VS</u><i>N</i> <i>VLKERRILNIFGVIKGYEEDRYVVVGAQRDALGAGVA</i> <i>AKSSVGTGLLLKLAQVFSDMISKDGFPRPSRSIIFASWTAG</i> <i>DFGAVGATEWLEGYLSSLHLKAFTYINLDKVVLGTSNF</i> <i>KVSASPLLYTLMGKIMQDVKHPVDGKSLYRDSNWISKV</i> <i>EKLSFDNAAYPFLAYSGIPAVSFCFCEDADYPYLGTRLD</i> <i>TYEALTQKVPQLNQMVRTAAEVAGQLIKLTHDVELNL</i> <i>DYEMYNKLLSFMKDLNQFKTDIRDMGLSLQWLYSAR</i> <i>GDYFRATSRLTTDFHNAEKTNRFVMREINDRIMKVEYH</i> <i>FLSPYVSPRESPFRHIFWGS GSHTLSALVENLKL RQKNIT</i> <i>AFNETLFRNQLALATWTIQGVANALSGDIWNIDNEF</i>	Последовательность химерного полипептида TfR, экспрессируемая у трансгенной мыши (выделенная курсивом часть представляет собой цитоплазматический домен, выделенная жирным шрифтом часть представляет собой трансмембранный домен, часть серого цвета представляет собой внеклеточный домен, а выделенная жирным шрифтом и подчеркнутая часть представляет собой апикальный домен)

SEQ ID NO:	Последовательность	Описание
301	GCTCAGAACTCCGTGATCATCGTGGATAAGAACGGCC GGCTGGTGTACCTGGTGGAGAACCCTGGCGGATACGT GGCTTACTCTAAGGCCGCTACCGTGACAGGCAAGCTG GTGCACGCCAACTTCGGAACCAAGAAGGACTTTGAGG ATCTGTACACACCAGTGAACGGCTCTATCGTGATCGT GCGCGCTGGAAAGATCACCTTCGCCGAGAAGGTGGCT AACGCCGAGAGCCTGAACGCCATCGGCGTGCTGATCT ACATGGATCAGACAAAGTTTCCCATCGTGAACGCTGA GCTGTCTTTCTTTGGACACGCTCACCTGGGCACCGGA GACCCATACACACCCGGATTCCCTAGCTTTAACCACA CCCAGTTCCCCCCTTCCAGGTCTAGCGGACTGCCAAA CATCCCCGTGCAGACAATCAGCAGAGCCGCTGCCGAG AAGCTGTTTGGCAACATGGAGGGGAGACTGCCCCCTCCG ATTGGAAGACCGACTCTACATGTAGGATGGTGACCTC CGAGTCAAAAAATGTCAAACCTCACCGTGTCCAAT	Последовательность ДНК вставки апикального домена человека
302	YxTEWSS	Мотив библиотеки
303	6xHis	Метка His
304	GGSG	Полипептидный линкер
305	SGGG	Полипептидный линкер
306	KESGSVSSEQLAQFRSLD	Полипептидный линкер
307	EGKSSGSGSESKST	Полипептидный линкер
308	GSAGSAAGSGEF	Полипептидный линкер
309	AEAAAKA	Полипептидный линкер

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Белок, содержащий:
 - (a) единственный полипептид програнулина или его вариант;
 - (b) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина или его вариантом (a); и
 - (c) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, при этом белок содержит только один полипептид програнулина или его вариант.
2. Белок по п. 1, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc не включает последовательность вариабельной области тяжелой и/или легкой цепи иммуноглобулина или ее антигенсвязывающую часть.
3. Белок по пп. 1 или 2, в котором полипептид програнулина содержит аминокислотную последовательность, имеющую более 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:212.
4. Белок по п. 3, в котором полипептид програнулина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:212.
5. Белок по любому из пп. 1-4, в котором первый полипептид Fc связан с полипептидом програнулина или его вариантом пептидной связью или полипептидным линкером.
6. Белок по п. 5, в котором полипептидный линкер имеет длину от 1 до 50 аминокислот.
7. Белок по пп. 5 или 6, в котором полипептидный линкер представляет собой гибкий полипептидный линкер.
8. Белок по п. 7, в котором гибкий полипептидный линкер представляет собой линкер, богатый глицином.
9. Белок по п. 8, в котором линкер, богатый глицином, представляет собой G₄S (SEQ ID NO:277) или (G₄S)₂ (SEQ ID NO:276).
10. Белок по любому из пп. 1-9, в котором N-конец или C-конец первого полипептида Fc связан с полипептидом програнулина.
11. Белок, содержащий:
 - (a) первый полипептид Fc, который связан с первым полипептидом програнулина или его вариантом; и
 - (b) второй полипептид Fc, который связан со вторым полипептидом програнулина или его вариантом,при этом первый полипептид Fc и второй полипептид Fc образуют димер Fc и, при этом первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с

рецептором трансферрина.

12. Белок по п. 11, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc не включает последовательность вариабельной области тяжелой и/или легкой цепи иммуноглобулина или ее антигенсвязывающую часть.

13. Белок по пп. 11 или 12, в котором каждый из первого и второго полипептидов програнулина содержит аминокислотную последовательность, имеющую более 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:212.

14. Белок по п. 13, в котором каждый из первого и второго полипептидов програнулина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:212.

15. Белок по любому из пп. 11-14, в котором первый полипептид Fc связан с первым полипептидом програнулина или его вариантом пептидной связью или полипептидным линкером, и причем второй полипептид Fc связан со вторым полипептидом програнулина или его вариантом пептидной связью или полипептидным линкером.

16. Белок по п. 15, в котором полипептидный линкер имеет длину от 1 до 50 аминокислот.

17. Белок по пп. 15 или 16, в котором полипептидный линкер представляет собой гибкий полипептидный линкер.

18. Белок по п. 17, в котором гибкий полипептидный линкер представляет собой линкер, богатый глицином.

19. Белок по п. 18, в котором линкер, богатый глицином, представляет собой G₄S (SEQ ID NO:277) или (G₄S)₂ (SEQ ID NO:276).

20. Белок по любому из пп. 11-19, в котором N-конец первого полипептида Fc связан с C-концом первого полипептида програнулина, и причем N-конец второго полипептида Fc связан с C-концом второго полипептида програнулина.

21. Белок по любому из пп. 11-19, в котором N-конец первого полипептида Fc связан с C-концом первого полипептида програнулина, и причем C-конец второго полипептида Fc связан с N-концом второго полипептида програнулина.

22. Белок по любому из пп. 11-19, в котором C-конец первого полипептида Fc связан с N-концом первого полипептида програнулина, и причем C-конец второго полипептида Fc связан с N-концом второго полипептида програнулина.

23. Белок по любому из пп. 1-22, в котором первый полипептид Fc представляет собой модифицированный полипептид Fc и/или второй полипептид Fc представляет собой модифицированный полипептид Fc.

24. Белок по любому из пп. 1-23, в котором первый полипептид Fc и второй полипептид Fc содержат модификации, способствующие гетеродимеризации.
25. Белок по п. 24, в котором димер Fc представляет собой гетеродимер Fc.
26. Белок по пп. 24 или 25, в котором один из полипептидов Fc имеет замену T366W, а другой полипептид Fc имеет замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU.
27. Белок по п. 26, в котором первый полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит замену T366W.
28. Белок по любому из пп. 1-10 и 23-27, в котором первый полипептид Fc связан с полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а второй полипептид Fc содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:261.
29. Белок по любому из пп. 11-27, в котором первый полипептид Fc связан с первым полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 213, 214, 225 и 226, а второй полипептид Fc связан со вторым полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:237, 238, 249 и 250.
30. Белок по п. 26, в котором первый полипептид Fc содержит замену T366W, а второй полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V.
31. Белок по любому из пп. 1-10, 23-26 и 30, в котором первый полипептид Fc связан с полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:237, 238, 249 и 250, а второй полипептид Fc содержит последовательность SEQ ID NO:267.
32. Белок по любому из пп. 11-26 и 30, в котором первый полипептид Fc связан с полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:237, 238, 249 и 250, а второй полипептид Fc связан со вторым полипептидом програнулина и содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226.
33. Белок по любому из пп. 1-32, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит нативный сайт связывания FcRn.
34. Белок по любому из пп. 1-33, в котором первый полипептид Fc и второй полипептид Fc не обладают эффекторной функцией.
35. Белок по любому из пп. 1-33, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc включает модификацию, которая снижает эффекторную функцию.
36. Белок по п. 35, в котором модификация, которая снижает эффекторную

функцию, представляет собой замены Ala в положении 234 и Ala в положении 235 в соответствии с нумерацией EU.

37. Белок по любому из пп. 1-36, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит аминокислотные изменения относительно нативной последовательности Fc, которые увеличивают период полужизни в сыворотке.

38. Белок по п. 37, в котором аминокислотные изменения включают замены Leu в положении 428 и Ser в положении 434 в соответствии с нумерацией EU.

39. Белок по п. 37, в котором аминокислотные изменения включают замену Ser или Ala в положении 434 в соответствии с нумерацией EU.

40. Белок по любому из пп. 1-39, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc специфически связывается с рецептором трансферрина.

41. Белок по п. 40, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc связывается с апикальным доменом рецептора трансферрина.

42. Белок по пп. 40 или 41, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит по меньшей мере две замены в положениях, выбранных из группы, состоящей из 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, в соответствии с нумерацией EU.

43. Белок по п. 42, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc включает замены по меньшей мере в трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или девяти положениях.

44. Белок по пп. 42 или 43, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc дополнительно содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих 380, 391, 392 и 415, в соответствии с нумерацией EU.

45. Белок по любому из пп. 42-44, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc дополнительно содержит одну, две или три замены в положениях, включающих 414, 424 и 426, в соответствии с нумерацией EU.

46. Белок по любому из пп. 42-45, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит Tgr в положении 388.

47. Белок по любому из пп. 42-46, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит ароматическую аминокислоту в положении 421.

48. Белок по п. 47, в котором ароматическая аминокислота в положении 421 представляет собой Tgr или Phe.

49. Белок по любому из пп. 42-48, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит по меньшей мере одно положение, выбранное из следующего: положение 380 представляет собой Tgr, Leu или Glu; положение 384

представляет собой Thr или Phe; положение 386 представляет собой Thr; положение 387 представляет собой Glu; положение 388 представляет собой Trp; положение 389 представляет собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390 представляет собой Ser или Asn; положение 413 представляет собой Thr или Ser; положение 415 представляет собой Glu или Ser; положение 416 представляет собой Glu; а положение 421 представляет собой Phe.

50. Белок по п. 49, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 11 положений, выбранных из следующего: положение 380 представляет собой Trp, Leu или Glu; положение 384 представляет собой Thr или Phe; положение 386 представляет собой Thr; положение 387 представляет собой Glu; положение 388 представляет собой Trp; положение 389 представляет собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390 представляет собой Ser или Asn; положение 413 представляет собой Thr или Ser; положение 415 представляет собой Glu или Ser; положение 416 представляет собой Glu; а положение 421 представляет собой Phe.

51. Белок по п. 50, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит 11 следующих положений: положение 380 представляет собой Trp, Leu или Glu; положение 384 представляет собой Thr или Phe; положение 386 представляет собой Thr; положение 387 представляет собой Glu; положение 388 представляет собой Trp; положение 389 представляет собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390 представляет собой Ser или Asn; положение 413 представляет собой Thr или Ser; положение 415 представляет собой Glu или Ser; положение 416 представляет собой Glu; а положение 421 представляет собой Phe.

52. Белок по пп. 50 или 51, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc имеет домен CH3 с по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO:34-38, 58, 60-90, 136 и 137-210.

53. Белок по п. 52, в котором остатки по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 положений, соответствующих положениям индекса EU 380, 384, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 413, 414, 415, 416, 421, 424 и 426 любой из SEQ ID NO:34-38, 58, 60-90, 136 и 137-210, не удалены или не заменены.

54. Белок по пп. 52 или 53, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:136-210.

55. Белок по п. 54, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:136, 138, 150, 162, 174, 186 и 198.

56. Белок по любому из пп. 1-55, отличающийся тем, что связывание белка с рецептором трансферрина существенно не ингибирует связывание трансферрина с рецептором трансферрина.

57. Белок по любому из пп. 1-56, в котором первый полипептид Fc и/или второй полипептид Fc имеет идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 75% или по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92% или 95% по сравнению с соответствующим полипептидом Fc дикого типа.

58. Белок по п. 57, отличающийся тем, что соответствующий полипептид Fc дикого типа представляет собой полипептид Fc IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека.

59. Белок по любому из пп. 1-58, отличающийся тем, что поглощение полипептида програнулина головным мозгом по меньшей мере в десять раз больше по сравнению с поглощением полипептида програнулина в отсутствие первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc, или по сравнению с поглощением полипептида програнулина без модификаций первого полипептида Fc и/или второго полипептида Fc, которые приводят к связыванию рецептора трансферрина.

60. Белок по любому из пп. 1-59, в котором первый полипептид Fc не является модифицированным для связывания с рецептором гематоэнцефалического барьера, а второй полипептид Fc является модифицированным для специфического связывания с рецептором трансферрина.

61. Белок по любому из пп. 1-59, в котором первый полипептид Fc является модифицированным для специфического связывания с рецептором трансферрина, а второй полипептид Fc не является модифицированным для связывания с рецептором гематоэнцефалического барьера.

62. Белок по любому из пп. 1-61, в котором полипептид програнулина или его вариант связывается с сортилином или просапозинном.

63. Белок по п. 62, в котором полипептид програнулина или его вариант связывается с сортилином.

64. Белок, содержащий:

(а) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и

(b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» T366W в соответствии со схемой нумерации EU.

65. Белок по п. 64, в котором (а) содержит любую последовательность из SEQ

ID NO:213, 214, 225 и 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:261.

66. Белок по п. 64, в котором второй полипептид Fc дополнительно содержит TfR-связывающие мутации.

67. Белок по п. 66, в котором (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:273.

68. Белок, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и

(b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем первый полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» T366W, а второй полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V в соответствии со схемой нумерации EU.

69. Белок по п. 68, в котором (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:237, 238, 249 и 250, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:267.

70. Белок по п. 68, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит TfR-связывающие мутации.

71. Белок по п. 70, в котором (a) содержит последовательность SEQ ID NO:274 или 275, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:267.

72. Белок, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который связан с первым полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и

(b) второй полипептид Fc, который связан со вторым полипептидом програнулина через полипептидный линкер,

причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc, первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, второй полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» T366W, и

причем N-конец первого полипептида програнулина связан с C-концом первого полипептида Fc через полипептидный линкер, а N-конец второго полипептида програнулина связан с C-концом второго полипептида Fc через полипептид линкер.

73. Белок по п. 72, в котором (a) содержит последовательность SEQ ID NO:213 или 214, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO: 237 или 238.

74. Белок по п. 72, в котором второй полипептид Fc дополнительно содержит TfR-связывающие мутации.

75. Белок по п. 74, в котором (a) содержит последовательность SEQ ID NO:213 или 214, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:274.

76. Белок, содержащий:

(а) первый полипептид Fc, который связан с первым полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и

(b) второй полипептид Fc, который связан со вторым полипептидом програнулина через полипептидный линкер,

причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc, первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, второй полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» T366W, и

причем С-конец первого полипептида програнулина связан с N-концом первого полипептида Fc через полипептидный линкер, а С-конец второго полипептида програнулина связан с N-концом второго полипептида Fc через полипептидный линкер.

77. Белок по п. 76, в котором (а) содержит последовательность SEQ ID NO:225 или 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO: 249 или 250.

78. Белок по п. 76, в котором второй полипептид Fc дополнительно содержит TfR-связывающие мутации.

79. Белок по п. 78, в котором (а) содержит последовательность SEQ ID NO:225 или 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:275.

80. Белок, содержащий:

(а) первый полипептид Fc, который связан с первым полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и

(b) второй полипептид Fc, который связан со вторым полипептидом програнулина через полипептидный линкер,

причем первый и второй полипептиды Fc образуют димер Fc, первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, второй полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» T366W, и

причем N-конец первого полипептида програнулина связан с С-концом первого полипептида Fc через полипептидный линкер, а С-конец второго полипептида програнулина связан с N-концом второго полипептида Fc через полипептидный линкер.

81. Белок по п. 80, в котором (а) содержит последовательность SEQ ID NO:213 или 214, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO: 249 или 250.

82. Белок по п. 80, в котором второй полипептид Fc дополнительно содержит TfR-связывающие мутации.

83. Белок по п. 82, в котором (а) содержит последовательность SEQ ID NO:213 или 214, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:275.

84. Белок, содержащий:

(a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и

(b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем первый полипептид Fc содержит мутации типа «впадины» T366S, L368A и Y407V, а второй полипептид Fc содержит мутацию типа «выступа» T366W в соответствии со схемой нумерации EU, и TfR-связывающие мутации.

85. Белок по п. 84, в котором (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO: 281 или 286.

86. Белок по п. 84, в котором второй полипептид Fc дополнительно содержит мутации L234A и L235A с мутацией P329G или без нее, и/или мутации M428L и N434S в соответствии со схемой нумерации EU.

87. Белок по п. 86, в котором (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226, а (b) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:209, 210, 282-285 и 287-291.

88. Белок по п. 84, в котором первый полипептид Fc дополнительно содержит мутации L234A и L235A с мутацией P329G или без нее, и/или мутации M428L и N434S в соответствии со схемой нумерации EU.

89. Белок по п. 88, в котором (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:215-224 и 227-236, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO: 281 или 286.

90. Белок по п. 84, в котором каждый из первого и второго полипептида Fc дополнительно содержит мутации L234A и L235A с мутацией P329G или без нее, и/или мутации M428L и N434S в соответствии со схемой нумерации EU.

91. Белок по п. 90, в котором (a) содержит любую последовательность из SEQ ID NO:215-224 и 227-236, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:209, 210, 282-285 и 287-291.

92. Полипептид, содержащий полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина или его вариантом, причем полипептид Fc содержит одну или более модификаций, которые способствуют его гетеродимеризации с другим полипептидом Fc.

93. Полипептид по пп. 92, в котором полипептид програнулина содержит аминокислотную последовательность, имеющую более 90% или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:212.

94. Полипептид по п. 93, в котором полипептид програнулина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:212.

95. Полипептид по любому из пп. 92-94, в котором полипептид Fc связан с полипептидом програнулина или его вариантом пептидной связью или полипептидным

линкером.

96. Полипептид по п. 95, в котором полипептидный линкер имеет длину от 1 до 50 аминокислот.

97. Полипептид по пп. 95 или 96, в котором полипептидный линкер представляет собой гибкий полипептидный линкер.

98. Полипептид по п. 97, в котором гибкий полипептидный линкер представляет собой линкер, богатый глицином.

99. Полипептид по п. 98, в котором линкер, богатый глицином, представляет собой G₄S (SEQ ID NO:277) или (G₄S)₂ (SEQ ID NO:276).

100. Полипептид по любому из пп. 92-99, в котором N-конец или C-конец полипептида Fc связан с полипептидом програнулина.

101. Полипептид по любому из пп. 92-100, в котором полипептид Fc содержит замены T366S, L368A и Y407V в соответствии с нумерацией EU.

102. Полипептид по п. 101, в котором полипептид содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:213, 214, 225 и 226.

103. Полипептид по любому из пп. 92-100, в котором полипептид Fc содержит замену T366W.

104. Полипептид по п. 103, в котором полипептид содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:237, 238, 249 и 250.

105. Полипептид по любому из пп. 92-104, в котором полипептид Fc содержит модификацию, которая снижает эффекторную функцию.

106. Полипептид по п. 105, в котором модификация, которая снижает эффекторную функцию, представляет собой замены Ala в положении 234 и Ala в положении 235 в соответствии с нумерацией EU.

107. Полипептид по п. 106, в котором полипептид содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:215, 216, 227, 228, 239, 240, 251 и 252.

108. Белок по любому из пп. 92-107, в котором полипептид Fc содержит аминокислотные изменения относительно нативной последовательности Fc, которые увеличивают период полужизни в сыворотке.

109. Полипептид по п. 108, в котором аминокислотные изменения включают замены Leu в положении 428 и Ser в положении 434 в соответствии с нумерацией EU.

110. Полипептид по п. 109, в котором полипептид содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:219-222, 231-234, 243-246 и 255-258.

111. Полипептид по любому из пп. 92-110, в котором полипептид Fc

дополнительно содержит TfR-связывающие мутации.

112. Полипептид по любому из пп. 92-111, в котором полипептид програнулина или его вариант связывается с сортилином или просапозинном.

113. Полипептид по п. 112, в котором полипептид програнулина или его вариант связывается с сортилином.

114. Способ лечения програнулин-ассоциированного расстройства, включающий введение белка по любому из пп. 1-91 или полипептида по любому из пп. 92-113 нуждающемуся в этом пациенту, причем програнулин-ассоциированное расстройство выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративного заболевания, атеросклероза, заболевания, связанного с TDP-43, и возрастной макулярной дегенерации (ВМД).

115. Способ увеличения количества полипептида програнулина или его варианта у пациента, страдающего програнулин-ассоциированным расстройством, включающий введение пациенту белка по любому из пп. 1-91 или полипептида по любому из пп. 92-113, причем програнулин-ассоциированное расстройство выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративного заболевания, атеросклероза, заболевания, связанного с TDP-43, и возрастной макулярной дегенерации (ВМД).

116. Способ снижения активности катепсина D у пациента, страдающего програнулин-ассоциированным расстройством, включающий введение пациенту белка по любому из пп. 1-91 или полипептида по любому из пп. 92-113, причем програнулин-ассоциированное расстройство выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративного заболевания, атеросклероза, заболевания, связанного с TDP-43, и возрастной макулярной дегенерации (ВМД).

117. Способ повышения лизосомальной деградации у пациента, страдающего програнулин-ассоциированным расстройством, включающий введение пациенту белка по любому из пп. 1-91 или полипептида по любому из пп. 92-113, причем програнулин-ассоциированное расстройство выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративного заболевания, атеросклероза, заболевания, связанного с TDP-43, и возрастной макулярной дегенерации (ВМД).

118. Способ по любому из пп. 114-117, в котором програнулин-ассоциированное расстройство представляет собой нейродегенеративное заболевание.

119. Способ по п. 118, в котором нейродегенеративное заболевание выбрано из группы, состоящей из лобно-височной деменции (ЛВД), нейронального цероидного липофусциноза (НЦЛ), болезни Ниманна — Пика типа А (НПА), болезни Ниманна — Пика типа В (НПВ), болезни Ниманна — Пика типа С (НПС), C9ORF72-ассоциированного бокового амиотрофического склероза (БАС)/ЛВД, спорадического

БАС, болезни Альцгеймера (БА), болезни Гоше и болезни Паркинсона.

120. Способ по п. 119, в котором нейродегенеративное заболевание представляет собой лобно-височную деменцию (ЛВД).

121. Способ по любому из п. 114-120, в котором у пациента имеется мутация в гене, кодирующем полипептид програнулина.

122. Фармацевтическая композиция, содержащая белок по любому из пп. 1-91 или полипептид по любому из пп. 92-113 и фармацевтически приемлемый носитель.

123. Отличное от человека трансгенное животное, содержащее (а) нуклеиновую кислоту, кодирующую химерный полипептид TfR, содержащий: (i) апикальный домен, имеющий по меньшей мере 90% идентичности с SEQ ID NO:296 и (ii) сайт связывания трансферрина нативного полипептида TfR животного, и (b) нокаут гена *GRN*, и причем химерный полипептид TfR экспрессируется в головном мозге животного.

124. Животное по п. 123, в котором апикальный домен содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:296.

125. Животное по п. 123, в котором апикальный домен содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO:297, SEQ ID NO:298 или SEQ ID NO:299.

126. Животное по любому из пп. 123-125, в котором химерный полипептид TfR содержит аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:300.

127. Животное по любому из пп. 123-126, в котором животное экспрессирует уровень химерного полипептида TfR в ткани головного мозга, печени, почек или легких в пределах 20% от уровня экспрессии TfR в той же ткани соответствующего животного дикого типа того же вида.

128. Животное по любому из пп. 123-127, в котором у животного количество эритроцитов, уровень гемоглобина или уровень гематокрита находятся в пределах 20% от количества эритроцитов, уровня гемоглобина или уровня гематокрита соответствующего животного дикого типа того же вида.

129. Животное по любому из пп. 123-128, в котором последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая апикальный домен, содержит последовательность нуклеиновой кислоты, имеющую по меньшей мере 95% идентичности с SEQ ID NO:301.

130. Животное по любому из пп. 123-129, в котором животное является гомозиготным или гетерозиготным по нуклеиновой кислоте, кодирующей химерный полипептид TfR.

131. Животное по любому из пп. 123-130, в котором нокаут гена *GRN* содержит

делецию экзонов 1-4 гена *GRN*.

132. Животное по любому из пп. 123-131, в котором животное представляет собой мышь или крысу.

133. Белок, содержащий: (а) модифицированный димер полипептида Fc, который специфически связывает TfR; и (b) полипептид програнулина.

134. Белок по п. 133, дополнительно содержащий: (с) полипептидный линкер, причем полипептидный линкер связывает модифицированный димер полипептида Fc с полипептидом програнулина.

135. Белок по пп. 133 или 134, в котором модифицированный димер полипептида Fc специфически связывается с апикальным доменом TfR.

136. Белок по любому из пп. 133-135, в котором модифицированный димер полипептида Fc содержит по меньшей мере две замены в положениях, выбранных из группы, состоящей из 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 и 421, в соответствии с нумерацией EU, одного полипептида Fc.

137. Белок по любому из пп. 133-136, в котором модифицированный димер полипептида Fc содержит замены по меньшей мере в трех, четырех, пяти, шести, семи, восьми или девяти положениях одного полипептида Fc.

138. Белок по любому из пп. 133-137, в котором модифицированный димер полипептида Fc дополнительно содержит одну, две, три или четыре замены в положениях, включающих 380, 391, 392 и 415, в соответствии с нумерацией EU, одного полипептида Fc.

139. Белок по любому из пп. 133-138, в котором модифицированный димер полипептида Fc дополнительно содержит одну, две или три замены в положениях, включающих 414, 424 и 426, в соответствии с нумерацией EU, одного полипептида Fc.

140. Белок по любому из пп. 133-139, в котором модифицированный димер полипептида Fc содержит Trp в положении 388 одного полипептида Fc.

141. Белок по любому из пп. 133-140, в котором модифицированный димер полипептида Fc содержит по меньшей мере одно положение, выбранное из следующего: положение 380 представляет собой Trp, Leu или Glu; положение 384 представляет собой Tyr или Phe; положение 386 представляет собой Thr; положение 387 представляет собой Glu; положение 388 представляет собой Trp; положение 389 представляет собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390 представляет собой Ser или Asn; положение 413 представляет собой Thr или Ser; положение 415 представляет собой Glu или Ser; положение 416 представляет собой Glu; а положение 421 представляет собой Phe одного полипептида Fc.

142. Белок по любому из пп. 133-141, в котором модифицированный димер

полипептида Fc содержит 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 11 положений, выбранных из следующего: положение 380 представляет собой Trp, Leu или Glu; положение 384 представляет собой Tyr или Phe; положение 386 представляет собой Thr; положение 387 представляет собой Glu; положение 388 представляет собой Trp; положение 389 представляет собой Ser, Ala, Val или Asn; положение 390 представляет собой Ser или Asn; положение 413 представляет собой Thr или Ser; положение 415 представляет собой Glu или Ser; положение 416 представляет собой Glu; а положение 421 представляет собой Phe одного полипептида Fc.

143. Белок по любому из пп. 133-142, в котором модифицированный димер полипептида Fc содержит домен CH3 первого полипептида Fc с по меньшей мере 85% идентичности, по меньшей мере 90% идентичности или по меньшей мере 95% идентичности с аминокислотами 111-217 любой из SEQ ID NO:34-38, 58, 60-90, 136 и 137-210.

144. Белок по любому из пп. 133-143, в котором модифицированный димер полипептида Fc содержит аминокислотную любую последовательность из SEQ ID NO:136-210.

145. Белок по любому из пп. 133-144, в котором модифицированный димер полипептида Fc содержит любую аминокислотную последовательность из SEQ ID NO:136, 138, 150, 162, 174, 186 и 198.

146. Белок по любому из пп. 133-145, в котором модифицированный димер полипептида Fc содержит полипептид Fc, имеющий идентичность аминокислотной последовательности по меньшей мере 75% или по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92% или 95% по сравнению с соответствующим полипептидом Fc дикого типа.

147. Белок по любому из пп. 133-146, в котором модифицированный димер полипептида Fc не включает последовательность вариабельной области тяжелой и/или легкой цепи иммуноглобулина или ее антигенсвязывающую часть.

148. Белок по любому из пп. 133-147, в котором С-конец полипептида Fc в модифицированном димере полипептида Fc связан с N-концом полипептида програнулина.

149. Белок по любому из пп. 133, 134 и 148, в котором полипептидный линкер связывает С-конец полипептида Fc в модифицированном димере полипептида Fc с N-концом полипептида програнулина.

150. Белок по любому из пп. 133-147, в котором С-конец полипептида програнулина связан с N-концом полипептида Fc в модифицированном димере полипептида Fc.

151. Белок по любому из пп. 133, 134 и 150, в котором полипептидный линкер связывает С-конец полипептида програнулина с N-концом полипептида Fc в модифицированном димере полипептида Fc.

152. Белок по любому из пп. 1-91 и 133-151 для применения в терапии.

153. Белок по любому из пп. 1-91 и 133-151 для применения при лечении нейродегенеративного заболевания.

154. Белок по любому из пп. 1-91 и 133-151 для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, выбранного из группы, состоящей из болезни Альцгеймера, первичной возрастной таупатии, деменции с тельцами Леви, прогрессирующего надъядерного паралича (ПНП), лобно-височной деменции, лобно-височной деменции с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17, деменции с аргирофильным зерном, бокового амиотрофического склероза, бокового амиотрофического склероза/комплекса паркинсонизм-деменция Гуама (БАС-КПД), кортикобазальной дегенерации, хронической травматической энцефалопатии, болезни Крейтцфельда — Якоба, деменции боксеров, диффузных нейрофибриллярных клубков с кальцификацией, синдрома Дауна, семейной деменции британского типа, семейной деменции датского типа, болезни Герстмана — Штраусслера — Шейнкера, глобулярной глиальной таупатии, паркинсонизма гваделупского типа с деменцией, ПНП гваделупского типа, болезни Галлервордена — Шпатца, наследственной диффузной лейкоэнцефалопатии со сфероидами (НДЛС), миозита с тельцами включения, множественной системной атрофии, миотонической дистрофии, болезни Насу — Хакола, деменции с преобладанием нейрофибриллярных клубков, болезни Ниманна — Пика типа С, паллидо-понтонигральной дегенерации, болезни Паркинсона, болезни Пика, постэнцефалитного паркинсонизма, церебральной амилоидной ангиопатии, вызванной прионным белком, прогрессирующего субкортикального глиоза, подострого склерозирующего панэнцефалита и деменции, характеризующейся только клубками.

155. Белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий

(а) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и

(b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (а) содержит последовательность SEQ ID NO:215, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:210.

156. Белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий

(a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и

(b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:227, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:210.

157. Белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий

(a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и

(b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:215, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:291.

158. Белок для применения при лечении нейродегенеративного заболевания, содержащий

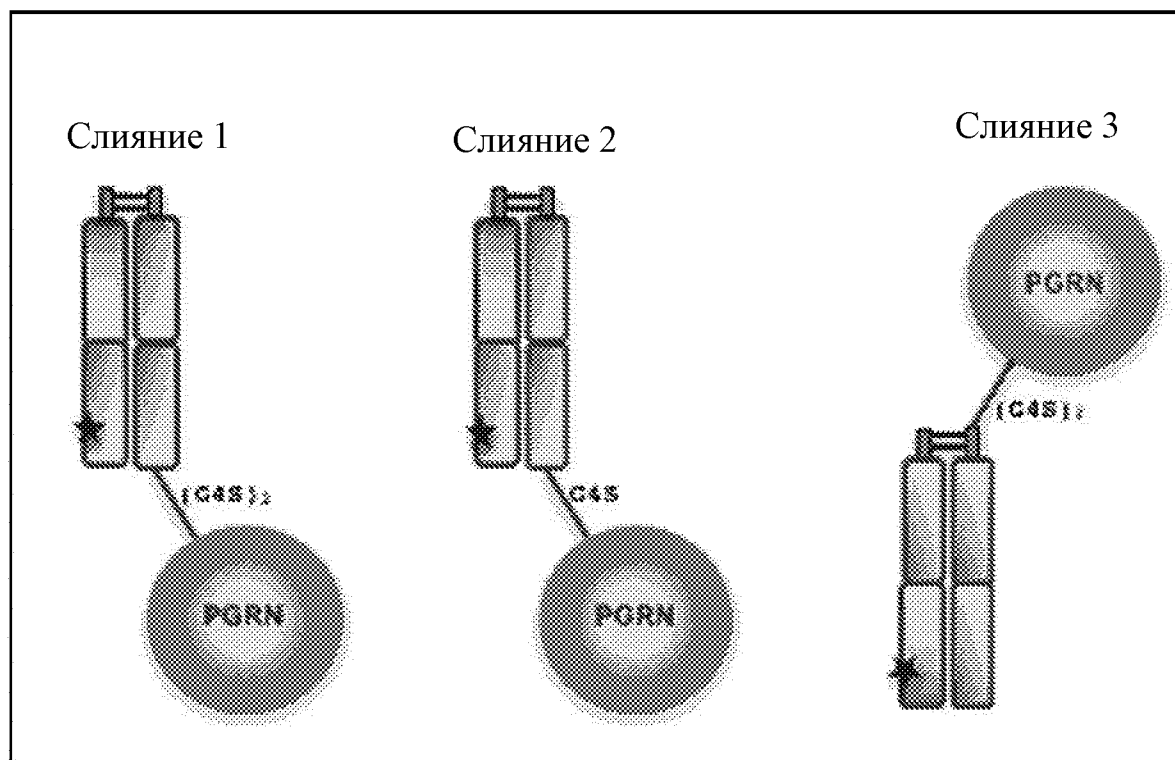
(a) первый полипептид Fc, который связан с полипептидом програнулина через полипептидный линкер; и

(b) второй полипептид Fc, который образует димер Fc с первым полипептидом Fc, причем (a) содержит последовательность SEQ ID NO:227, а (b) содержит последовательность SEQ ID NO:291.

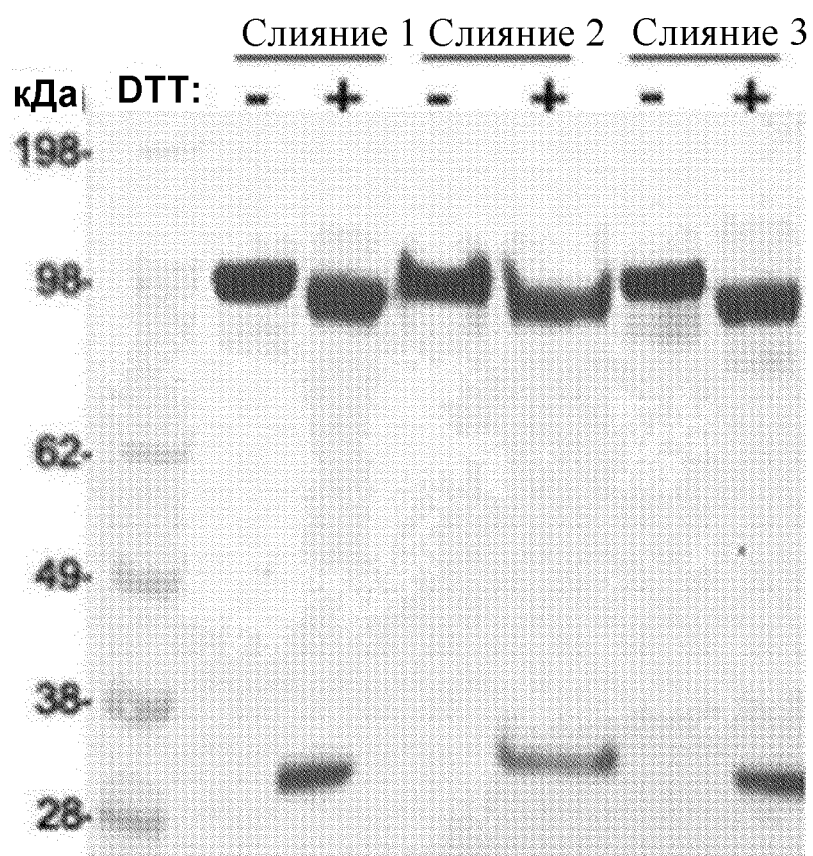
159. Белок для применения по любому из пп. 155-158, в котором нейродегенеративное заболевание выбрано из группы, состоящей из болезни Альцгеймера, первичной возрастной таупатии, деменции с тельцами Леви, прогрессирующего надъядерного паралича (ПНП), лобно-височной деменции, лобно-височной деменции с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17, деменции с аргирофильным зерном, бокового амиотрофического склероза, бокового амиотрофического склероза/комплекса паркинсонизм-деменция Гуама (БАС-КПД), кортикобазальной дегенерации, хронической травматической энцефалопатии, болезни Крейтцфельда — Якоба, деменции боксеров, диффузных нейрофибриллярных клубков с кальцификацией, синдрома Дауна, семейной деменции британского типа, семейной деменции датского типа, болезни Герстмана — Штраусслера — Шейнкера, глобулярной глиальной таупатии, паркинсонизма гваделупского типа с деменцией, ПНП гваделупского типа, болезни Галлервордена — Шпатца, наследственной диффузной лейкоэнцефалопатии со сфероидными включениями (НДЛС), миозита с тельцами включения, множественной системной атрофии, миотонической дистрофии, болезни Насу — Хакола, деменции с преобладанием нейрофибриллярных клубков, болезни Ниманна — Пика типа С, паллидо-понт-

нигральной дегенерации, болезни Паркинсона, болезни Пика, постэнцефалитного паркинсонизма, церебральной амилоидной ангиопатии, вызванной прионным белком, прогрессирующего субкортикального глиоза, подострого склерозирующего панэнцефалита и деменции, характеризующейся только клубками.

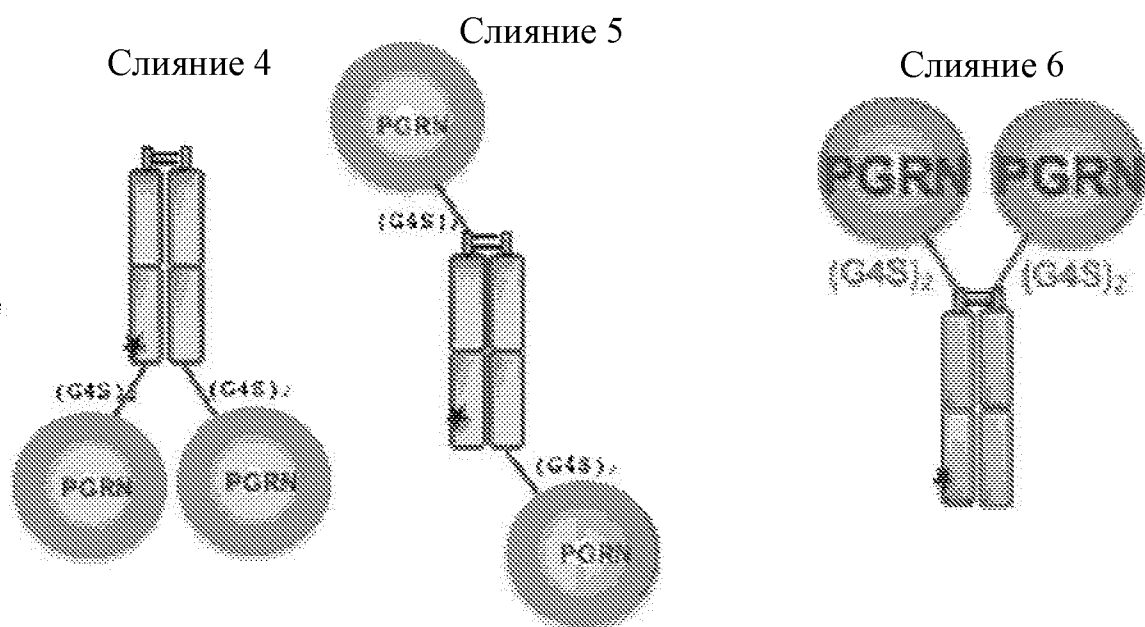
ФИГ. 1А



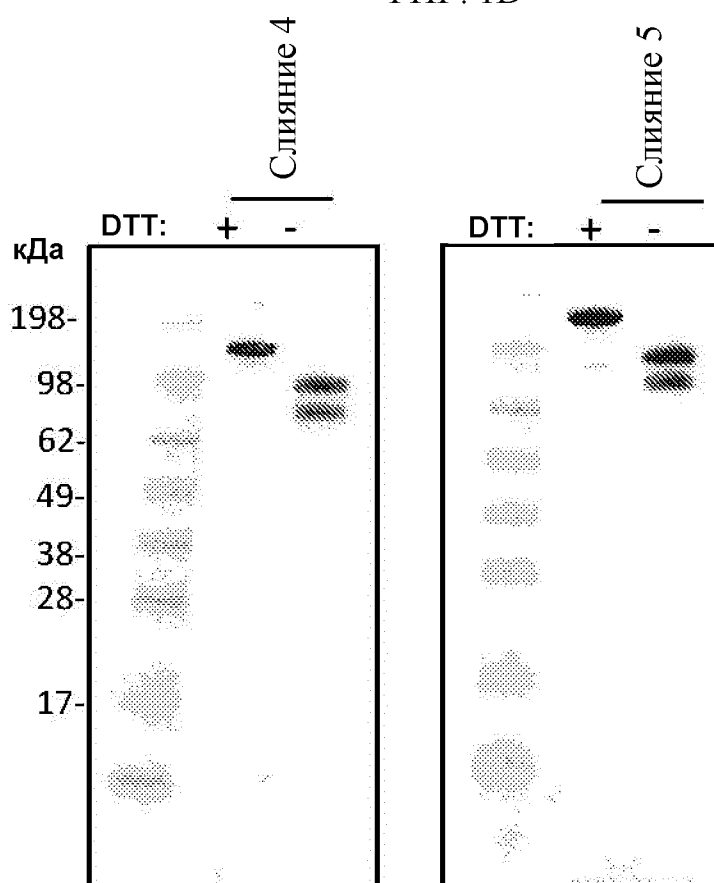
ФИГ. 1В



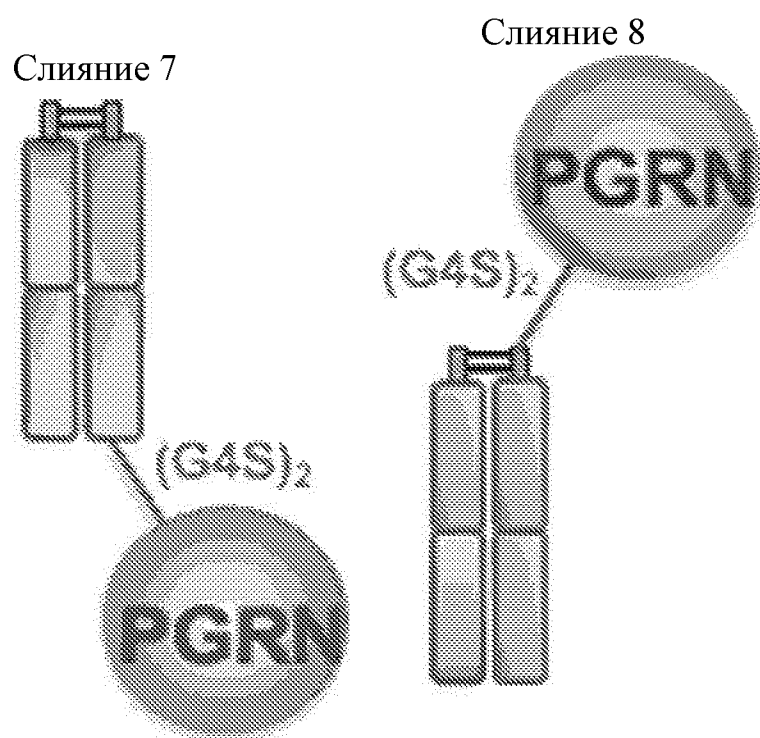
ФИГ. 1С



ФИГ. 1D



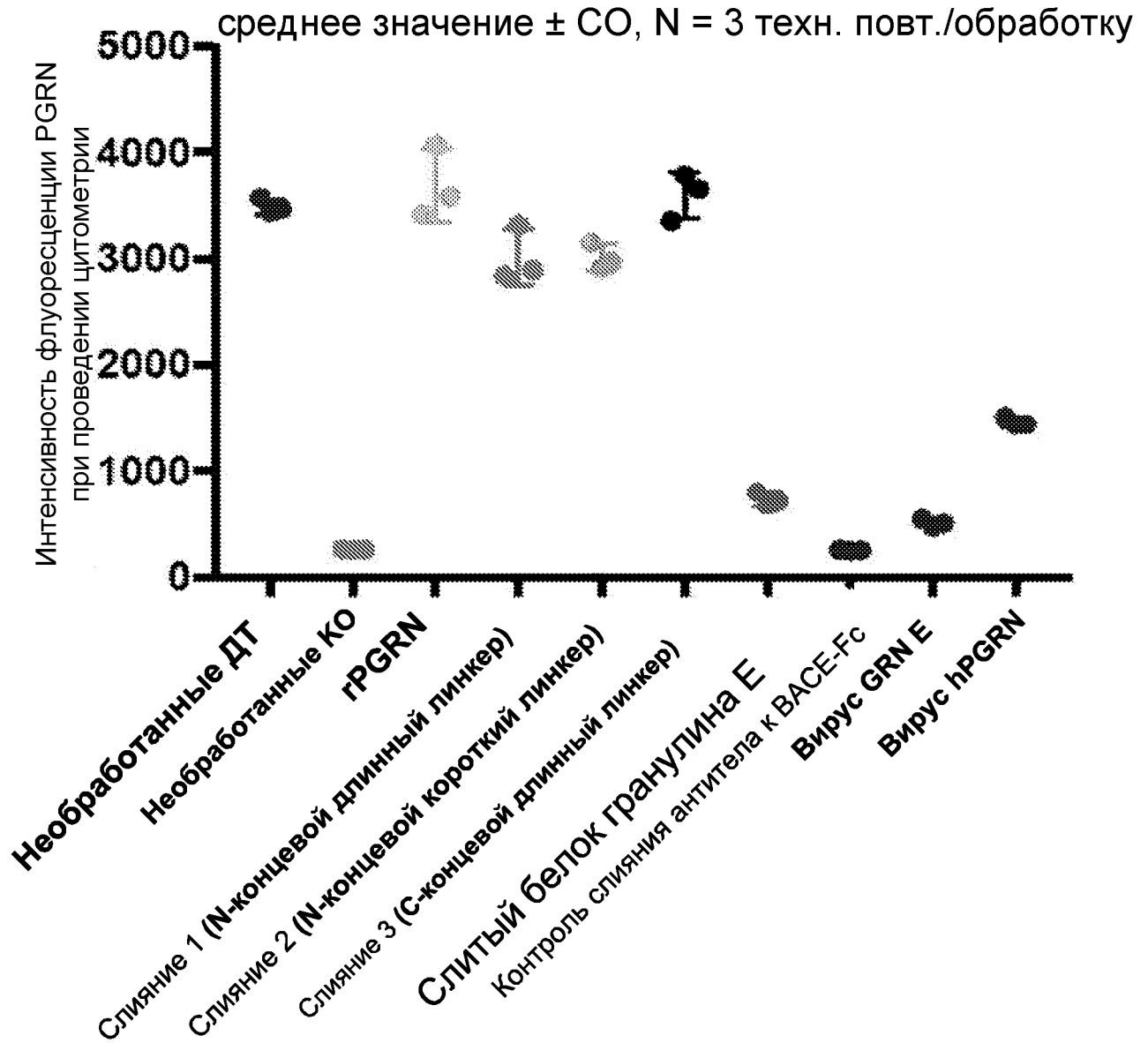
ФИГ. 1Е



ФИГ. 2А

PGRN человека

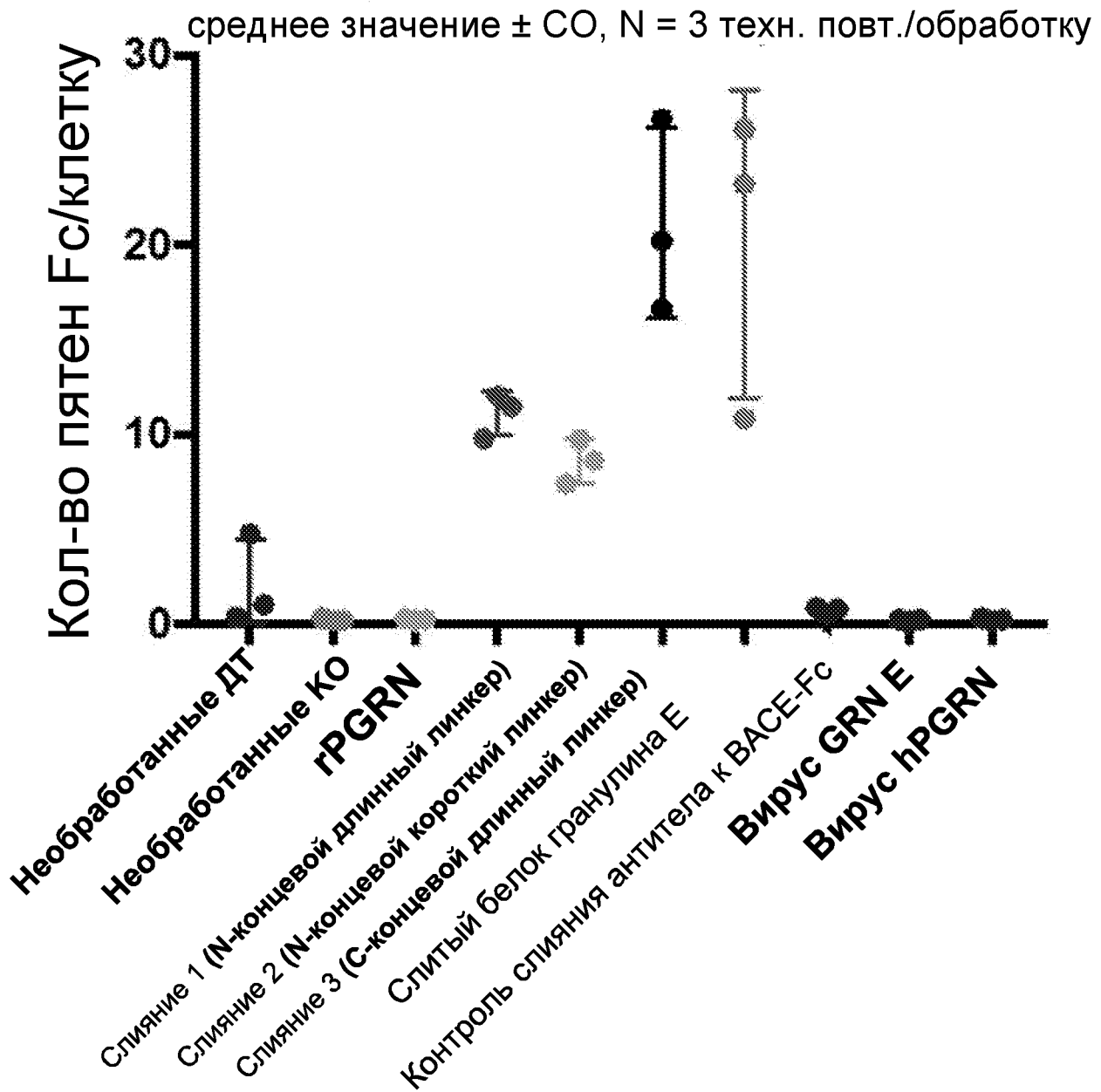
BMDM KO, 16ч поглощение димер Fc:PGRN



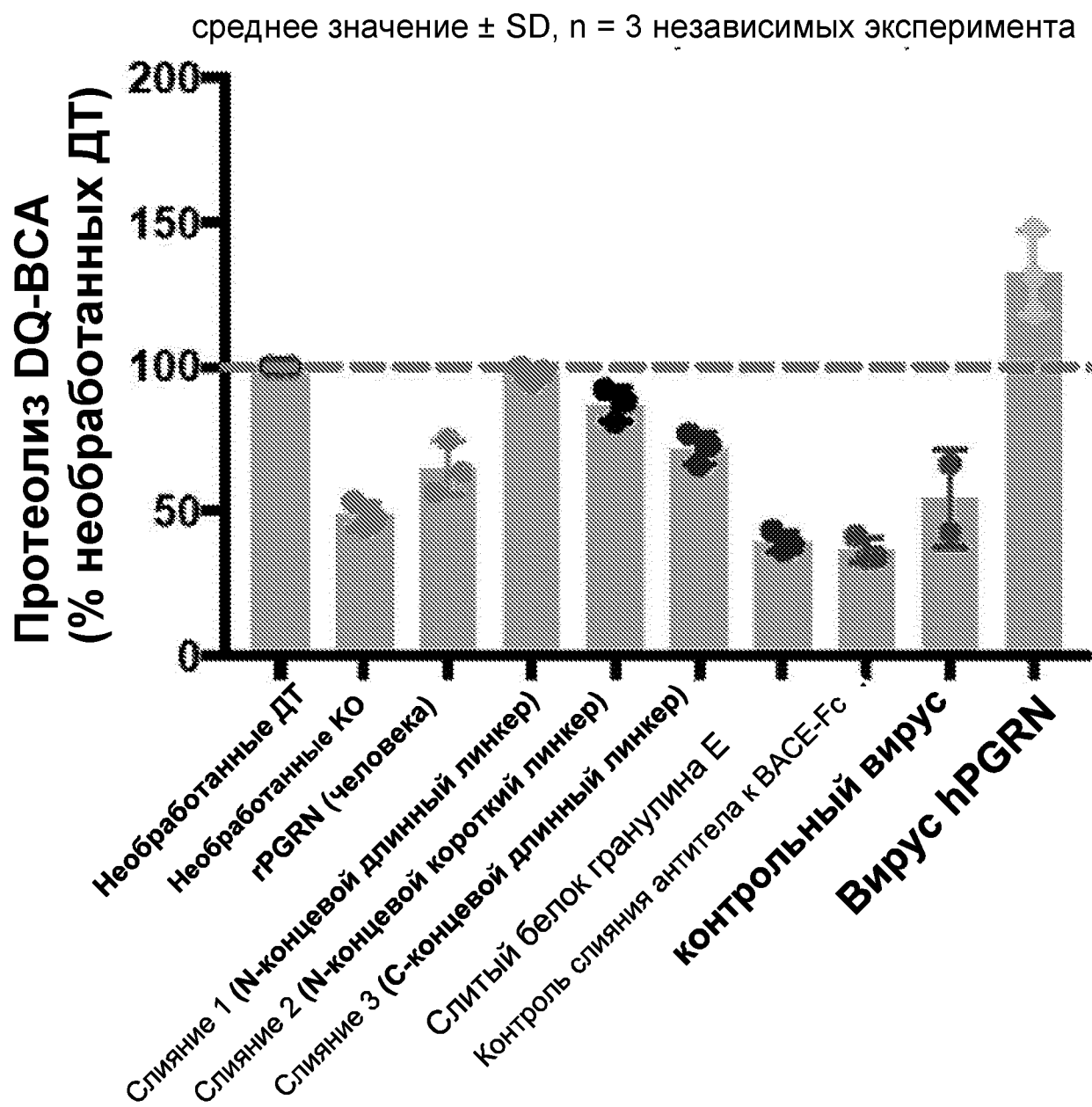
ФИГ. 2В

Fc человека

BMDM KO, 16ч поглощение димер Fc:PGRN

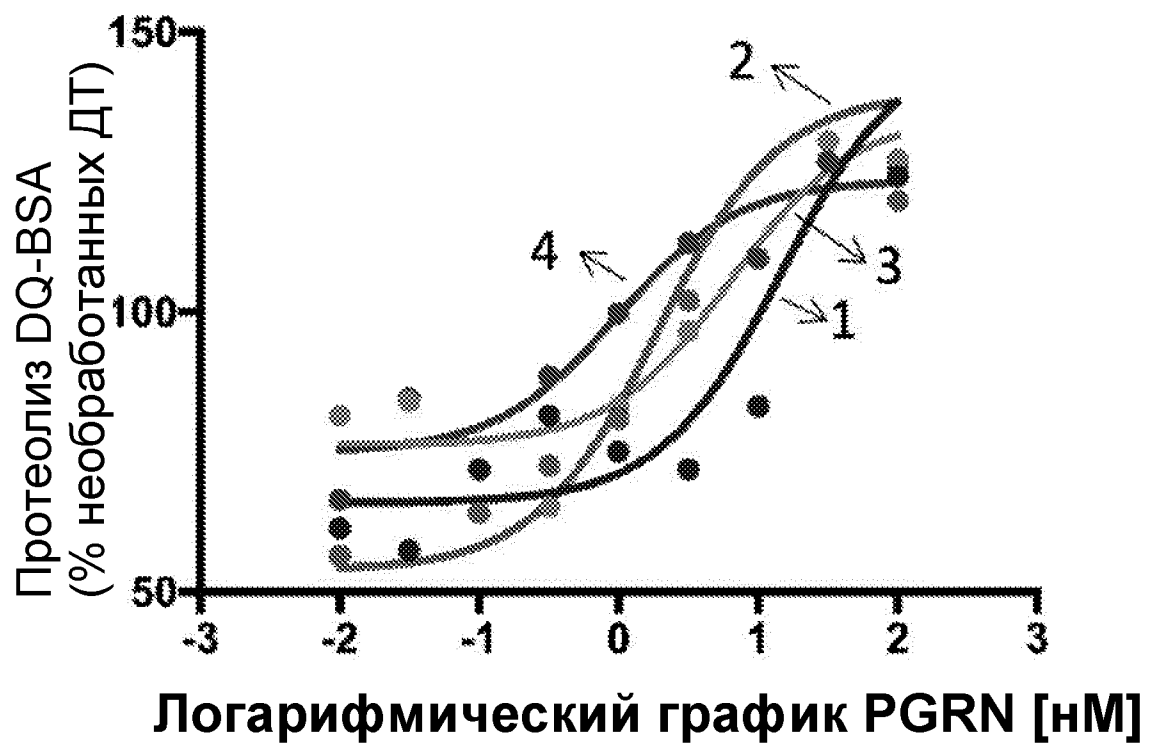


ФИГ. 3



ФИГ. 4

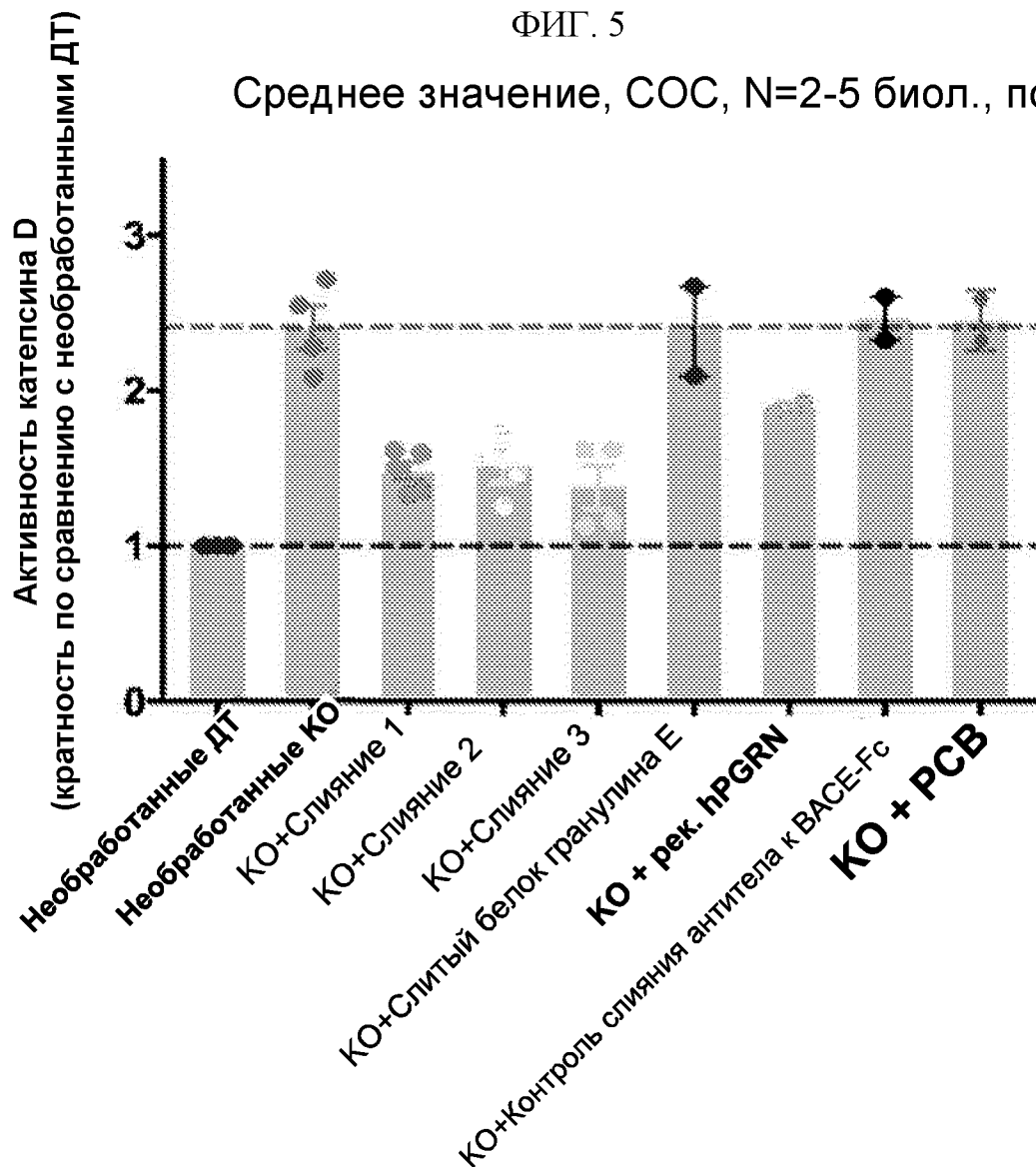
Зависимость доза-ответ слитого белка димер Fc:PGRN в течение 24ч



- 1 — KS+Слияние 1 (N-концевой длинный линкер)
- 2 — KO+Слияние 3 (С-концевой длинный линкер)
- 3 — KO+Слияние 4 (двунаправленный параллельный)
- 4 — KS+Слияние 5 (двунаправленный непараллельный)

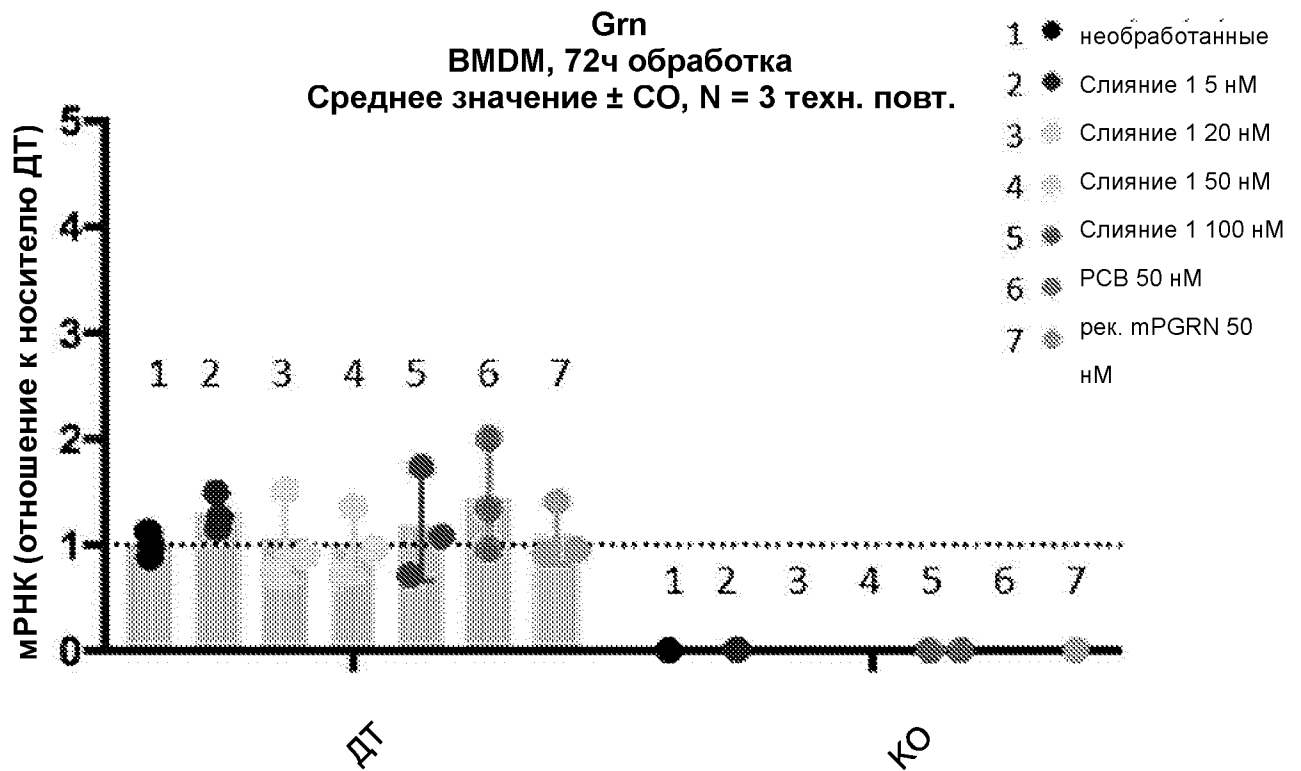
ФИГ. 5

Среднее значение, СОС, N=2-5 биол., повт.

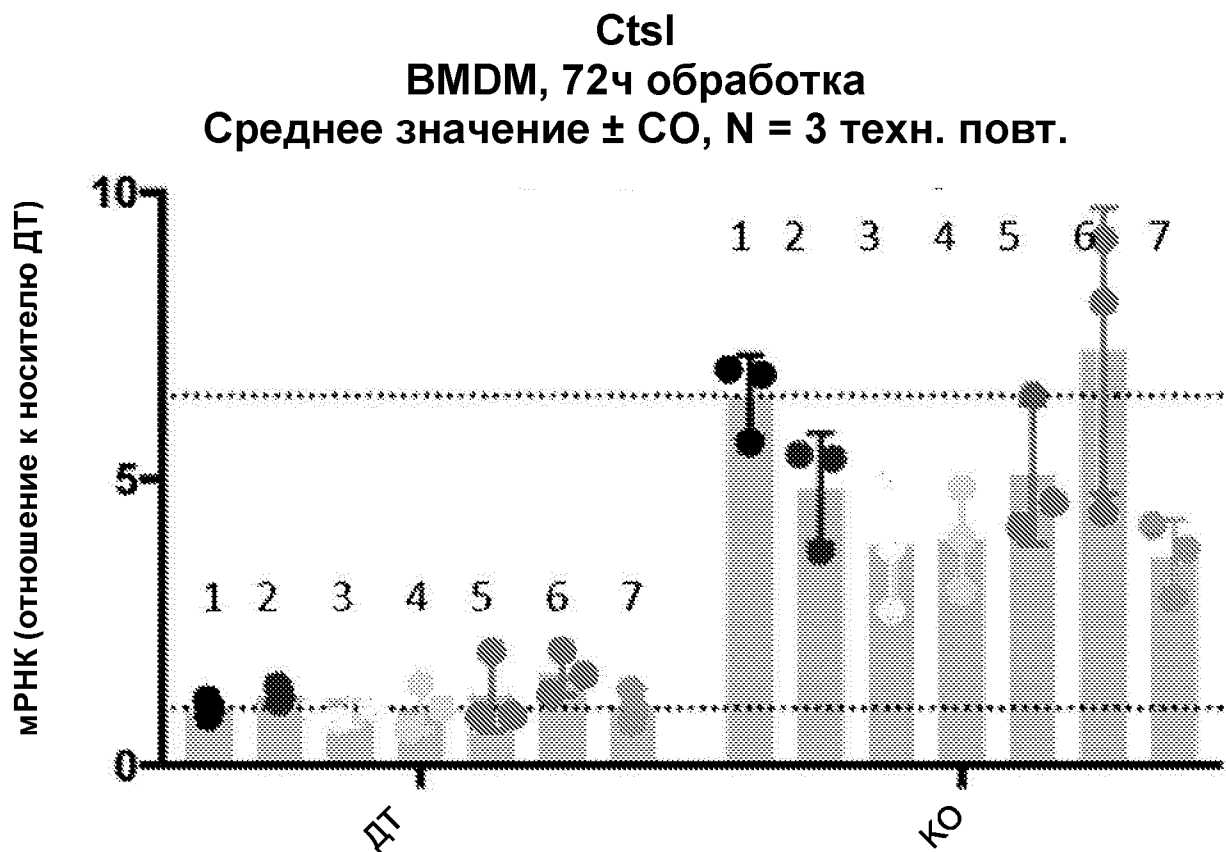


Слияние N-концевой, N-концевой, короткий пептид	Слияние С-концевой, Слитый белок гранулина E
1	3
2	

ФИГ. 6А

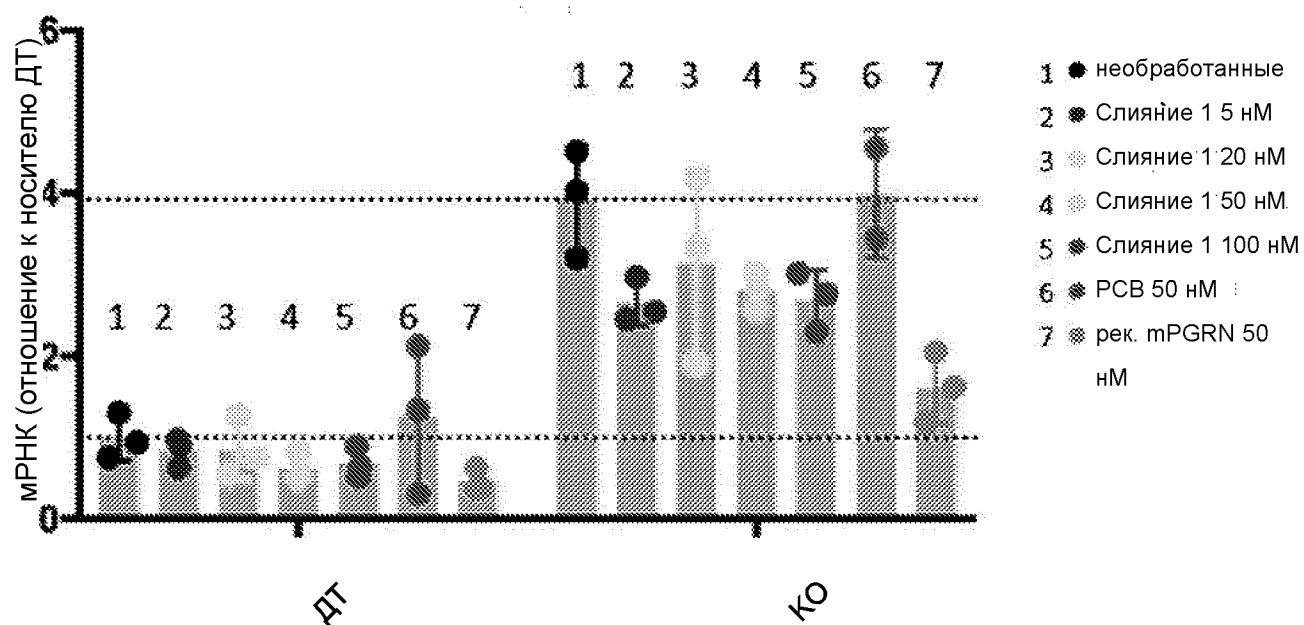


ФИГ. 6В



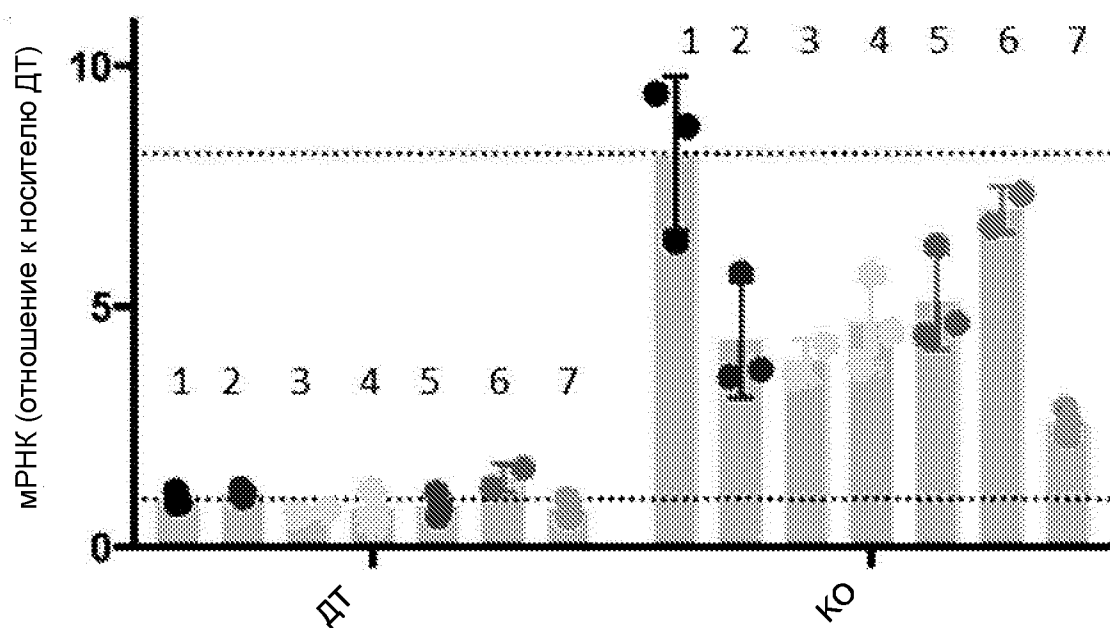
ФИГ. 6С

Tmem106b
BMDM, 72ч обработка
 Среднее значение $\pm$ CO, N = 3 техн. повт.

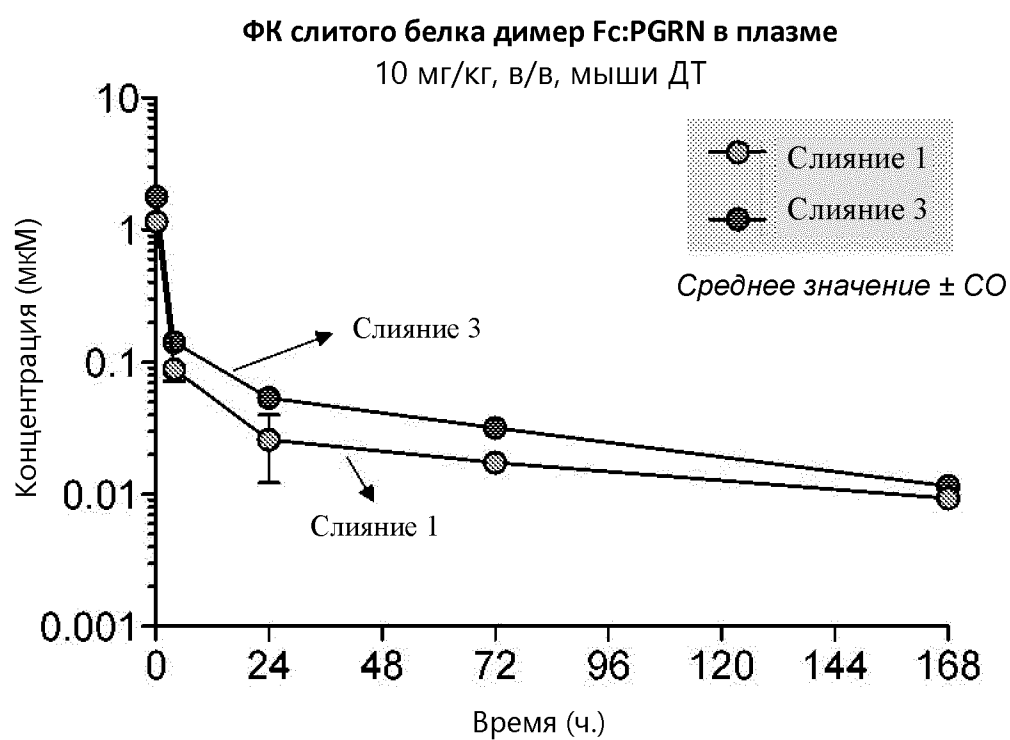


ФИГ. 6D

Psap
BMDM, 72ч обработка
 Среднее значение $\pm$ CO, N = 3 техн. повт.



ФИГ. 7А

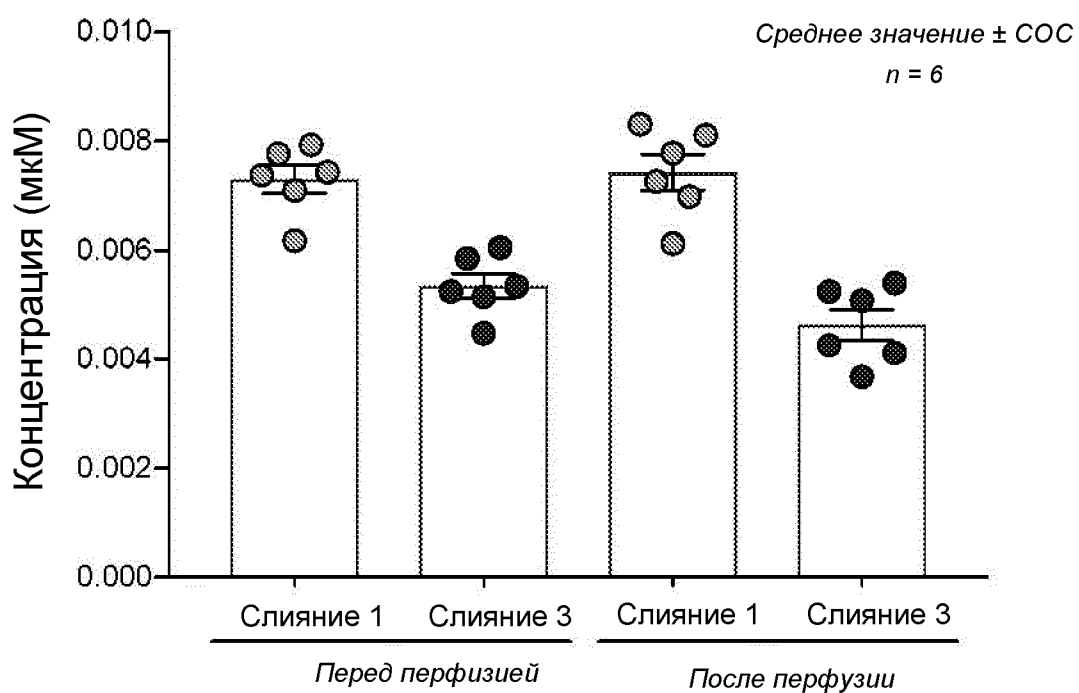


	CL (мл/день/кг)	T _{1/2} (ч)
Слияние 1	283	99
Слияние 3	186	65

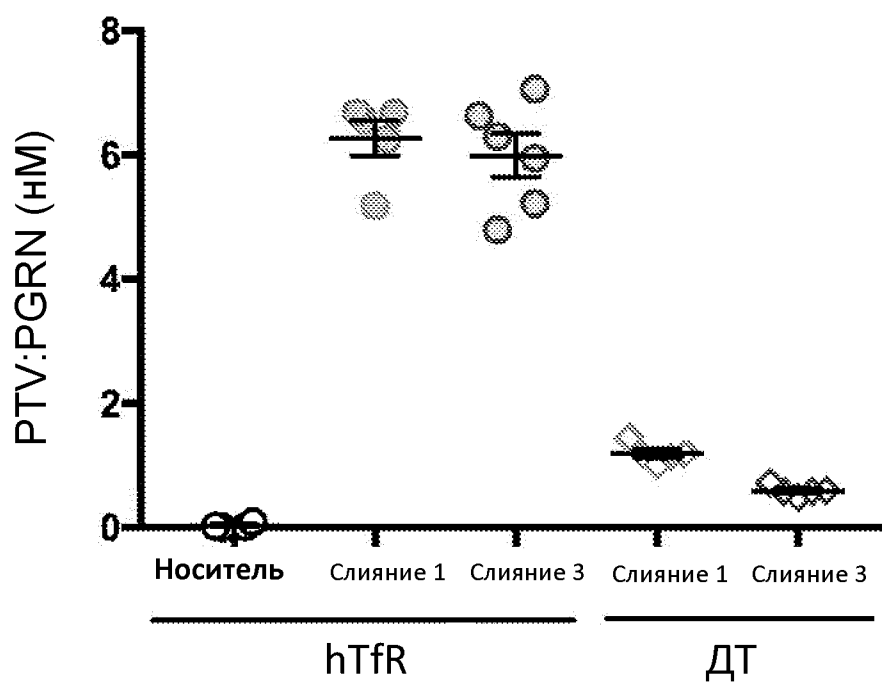
ФИГ. 7В

Слитый белок димер Fc:PGRN в печени

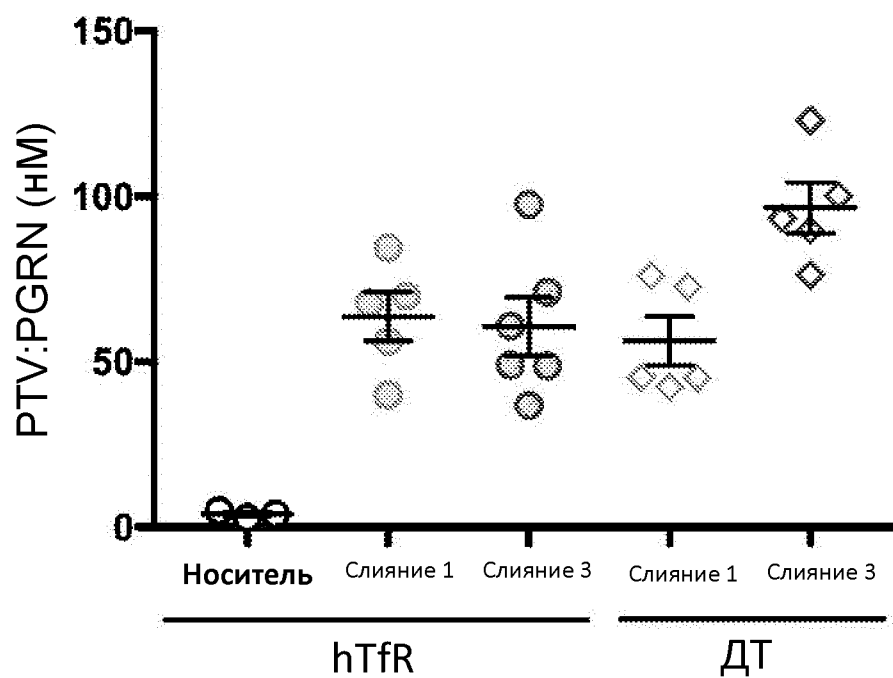
10 мг/кг, в/в, мыши ДТ



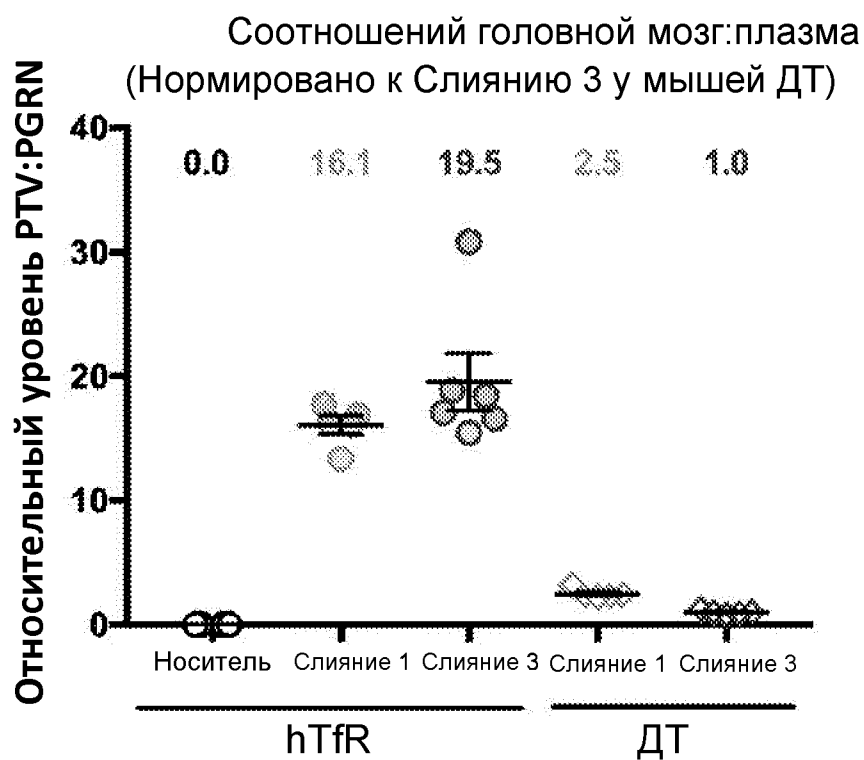
ФИГ. 8А
Лизаты головного мозга (4 ч)



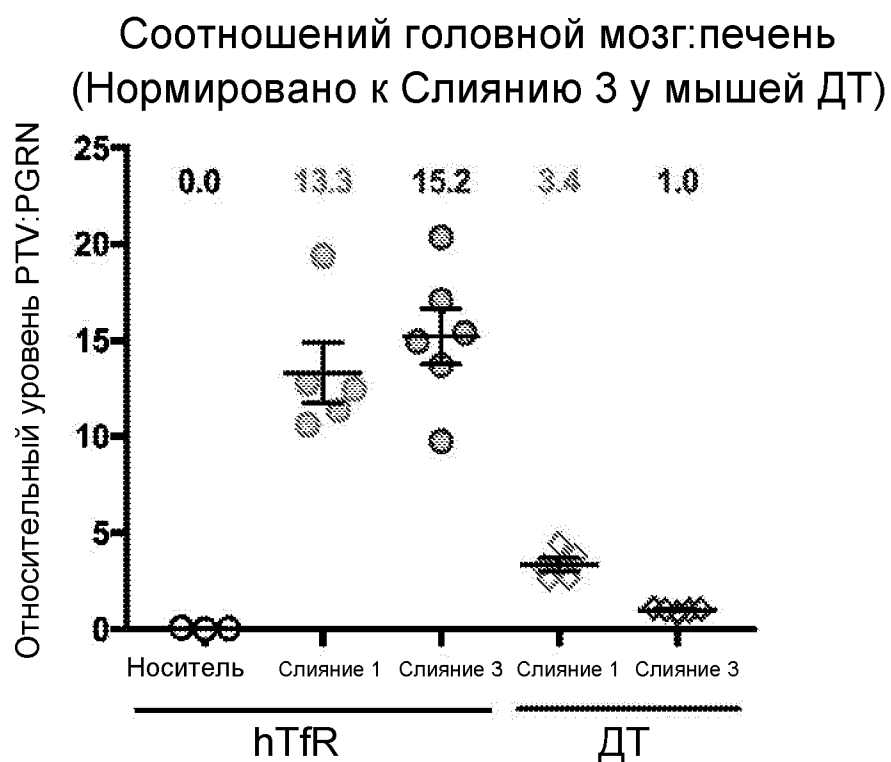
ФИГ. 8В
Лизаты печени (4 ч)



ФИГ. 9А

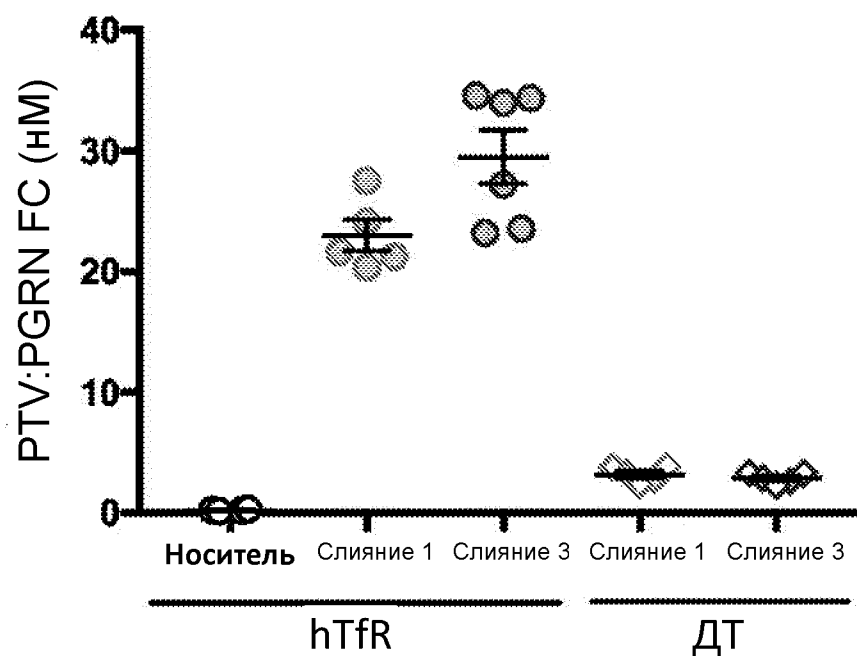


ФИГ. 9В



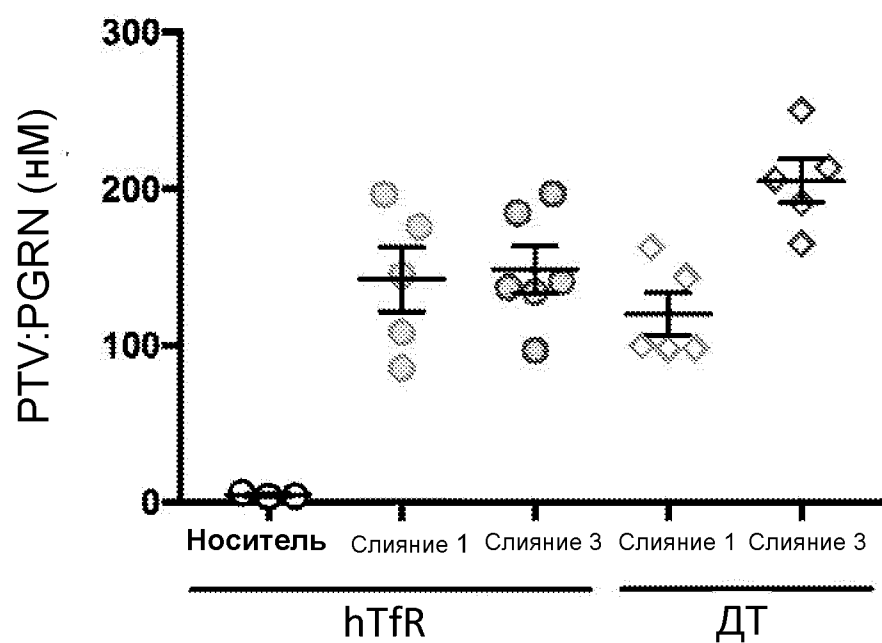
ФИГ. 10А

Лизаты головного мозга (4 ч)



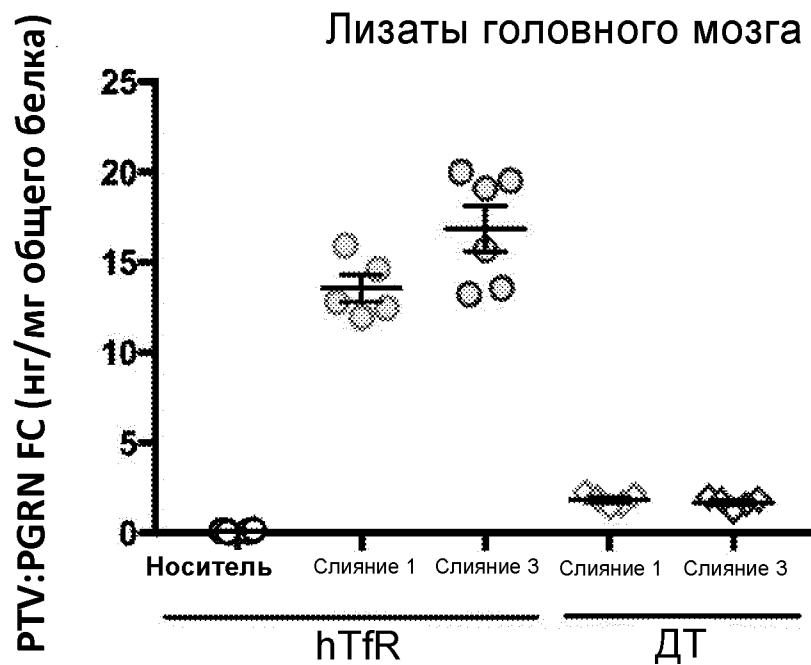
ФИГ. 10В

Лизаты печени (4 ч)



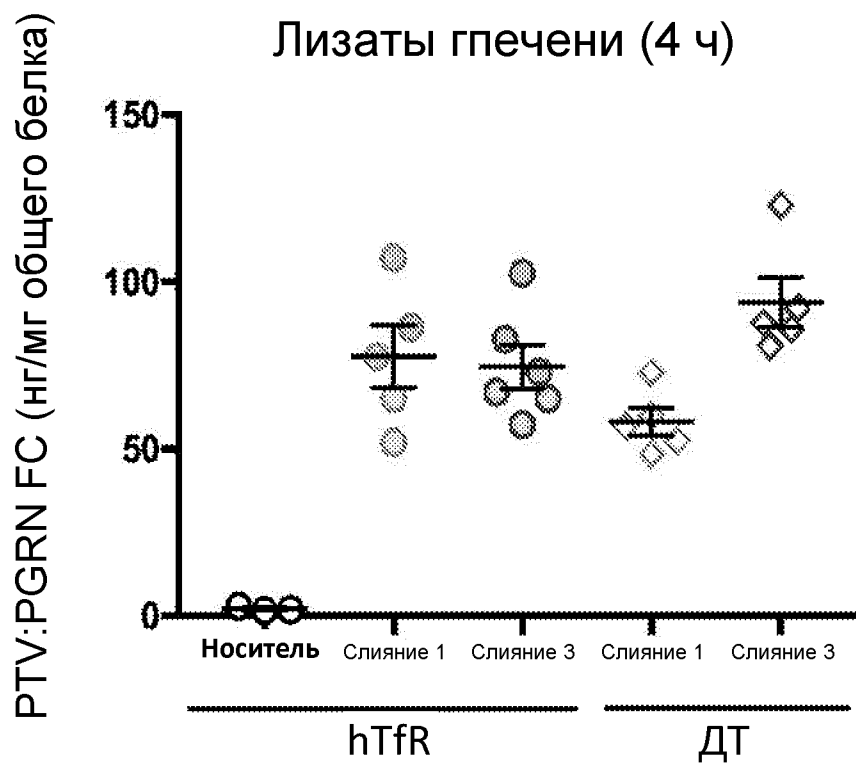
ФИГ. 11А

Лизаты головного мозга (4 ч)



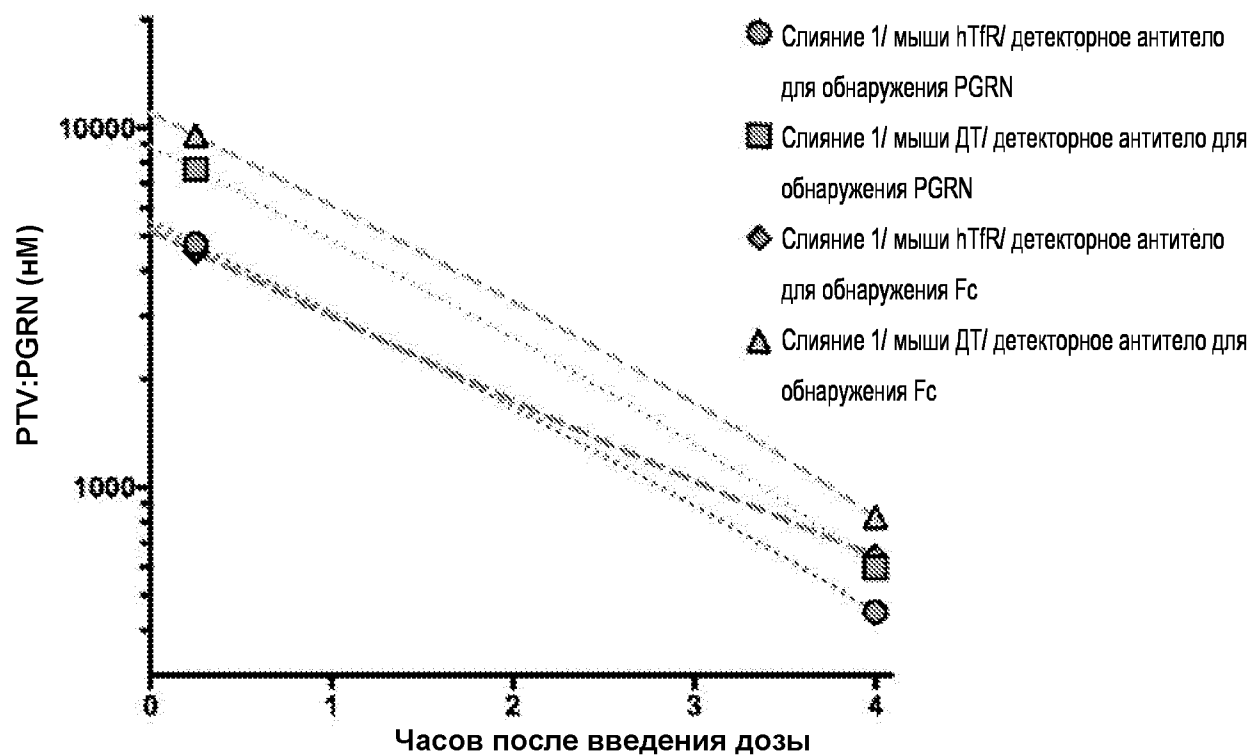
ФИГ. 11В

Лизаты печени (4 ч)



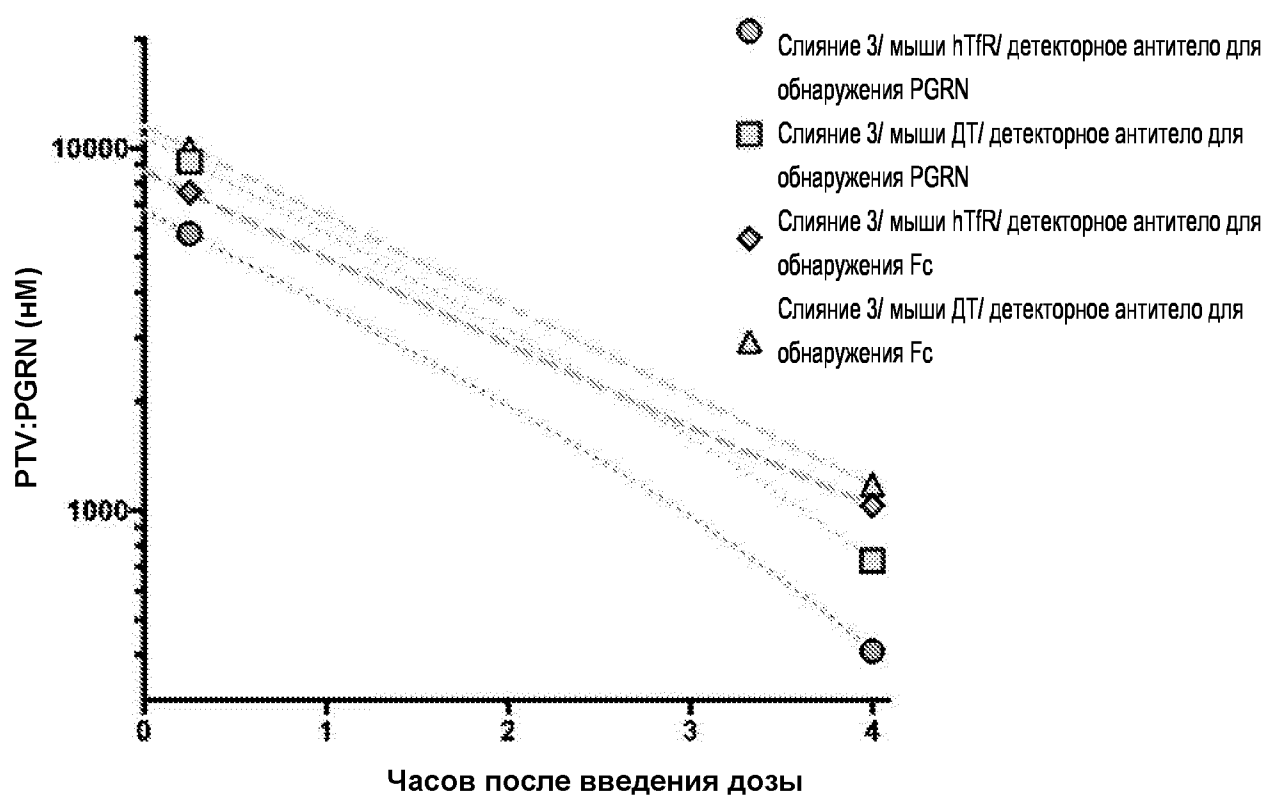
ФИГ. 12А

ФК в плазме - Слияние 1



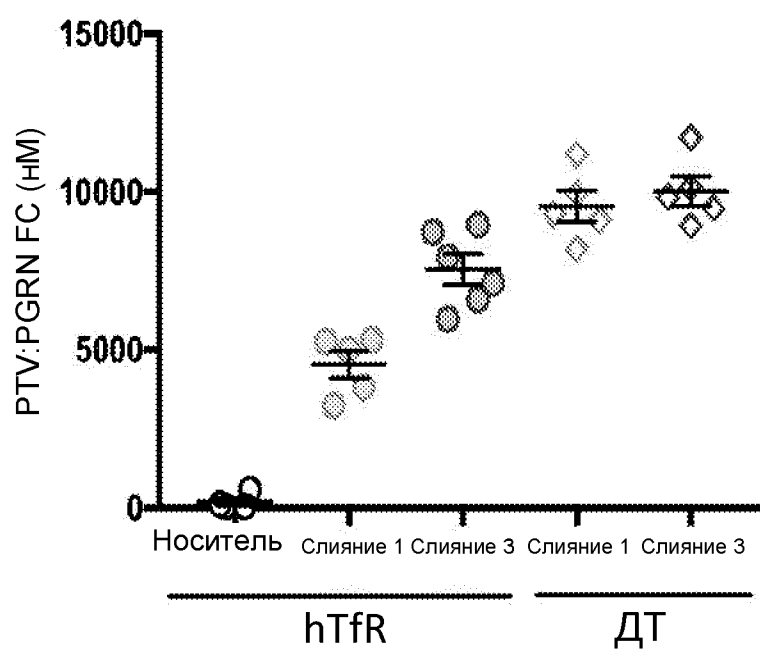
ФИГ. 12В

ФК в плазме - Слияние 3



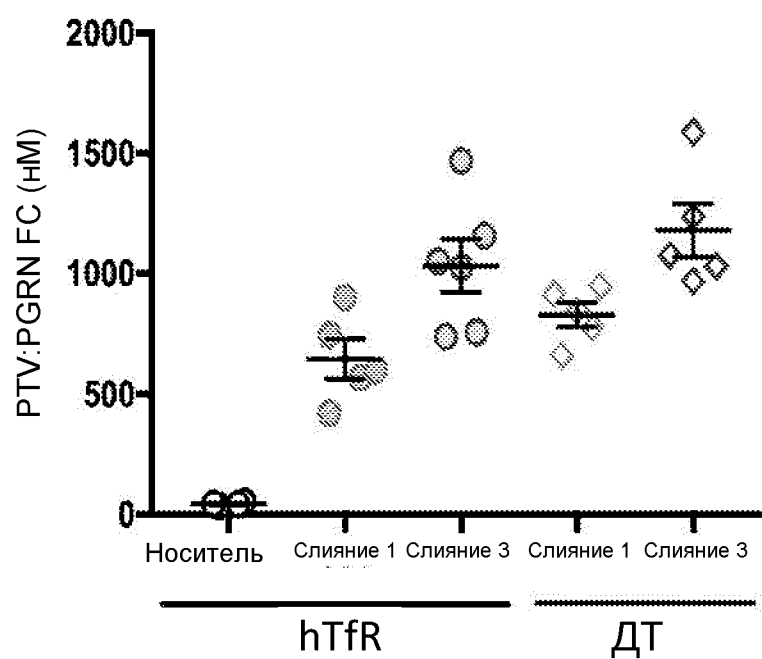
ФИГ. 12С

Плазма 0,25 ч

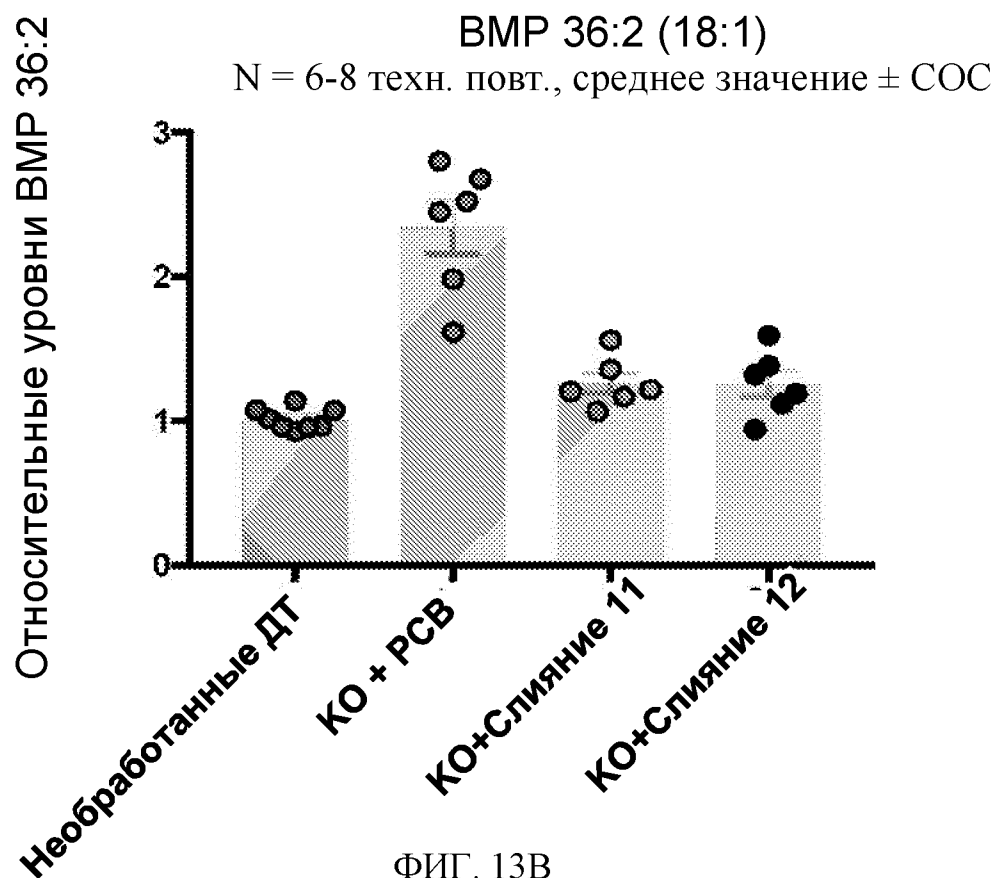


ФИГ. 12D

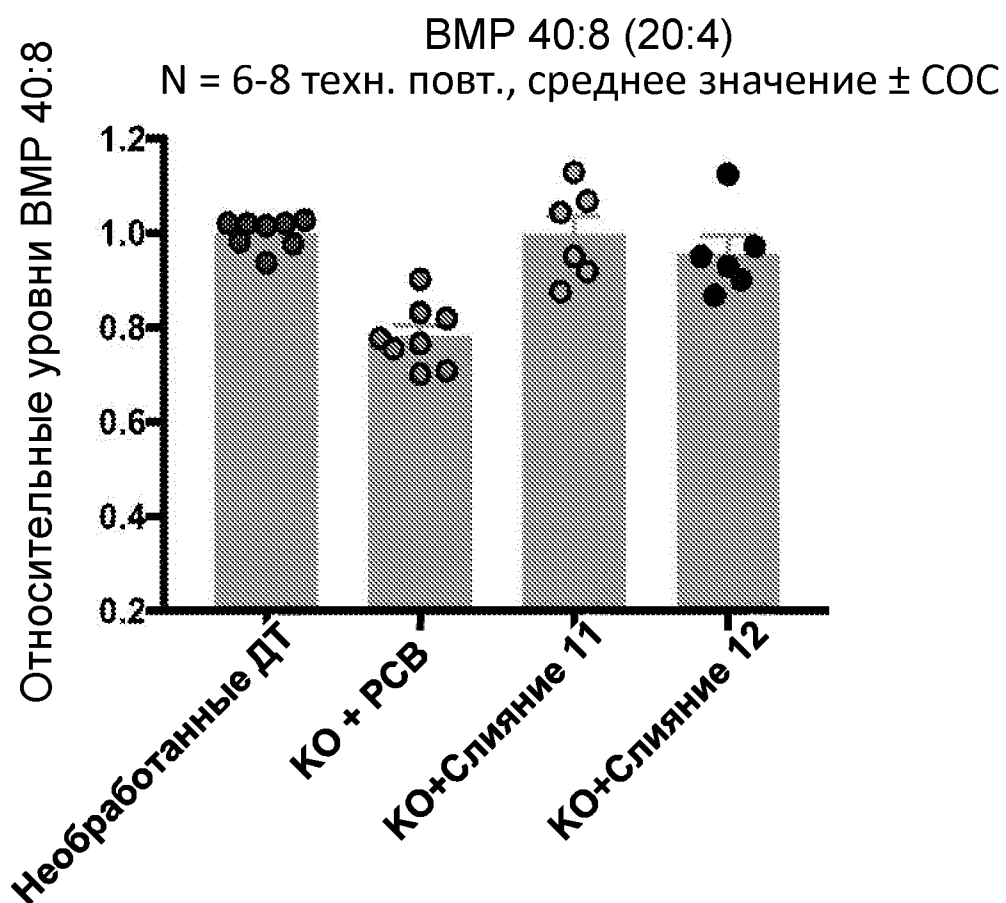
Плазма 4 ч



ФИГ. 13А

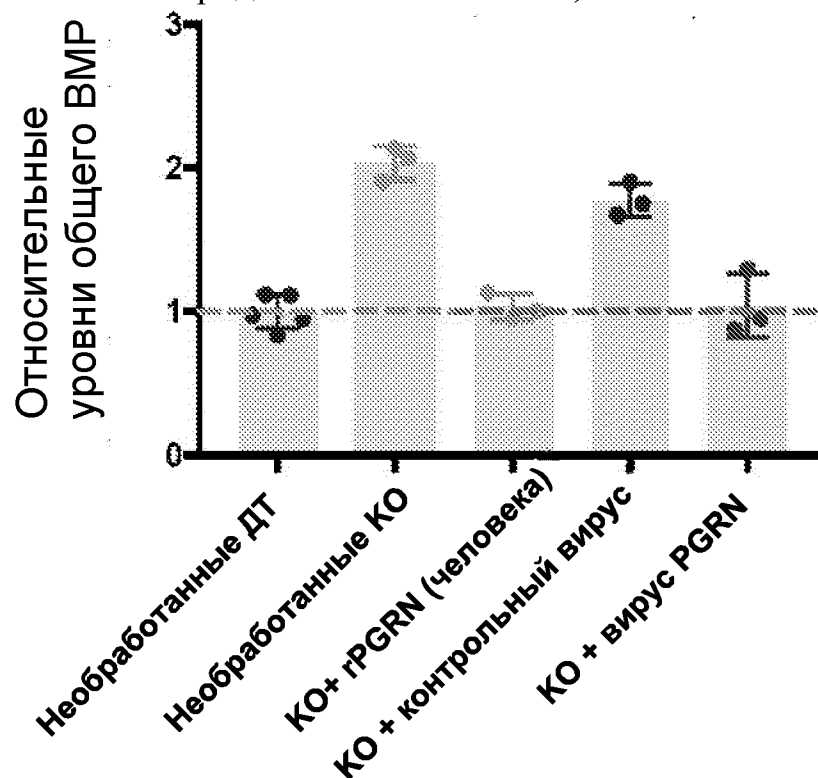


ФИГ. 13В



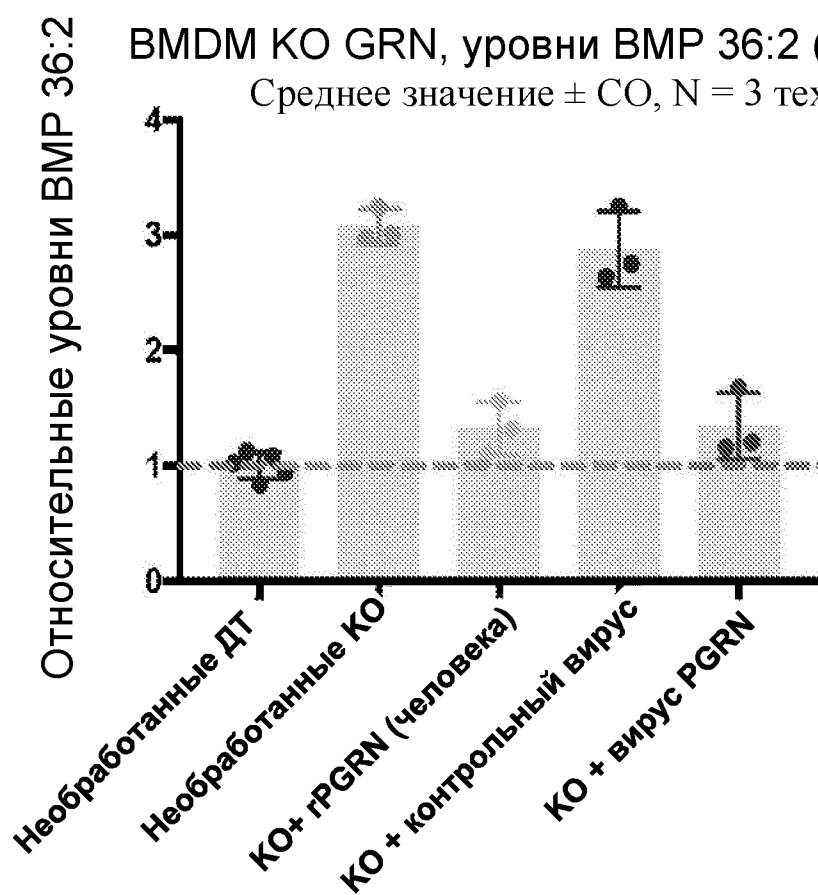
ФИГ. 13С

BMDM KO GRN, уровни общего BMP

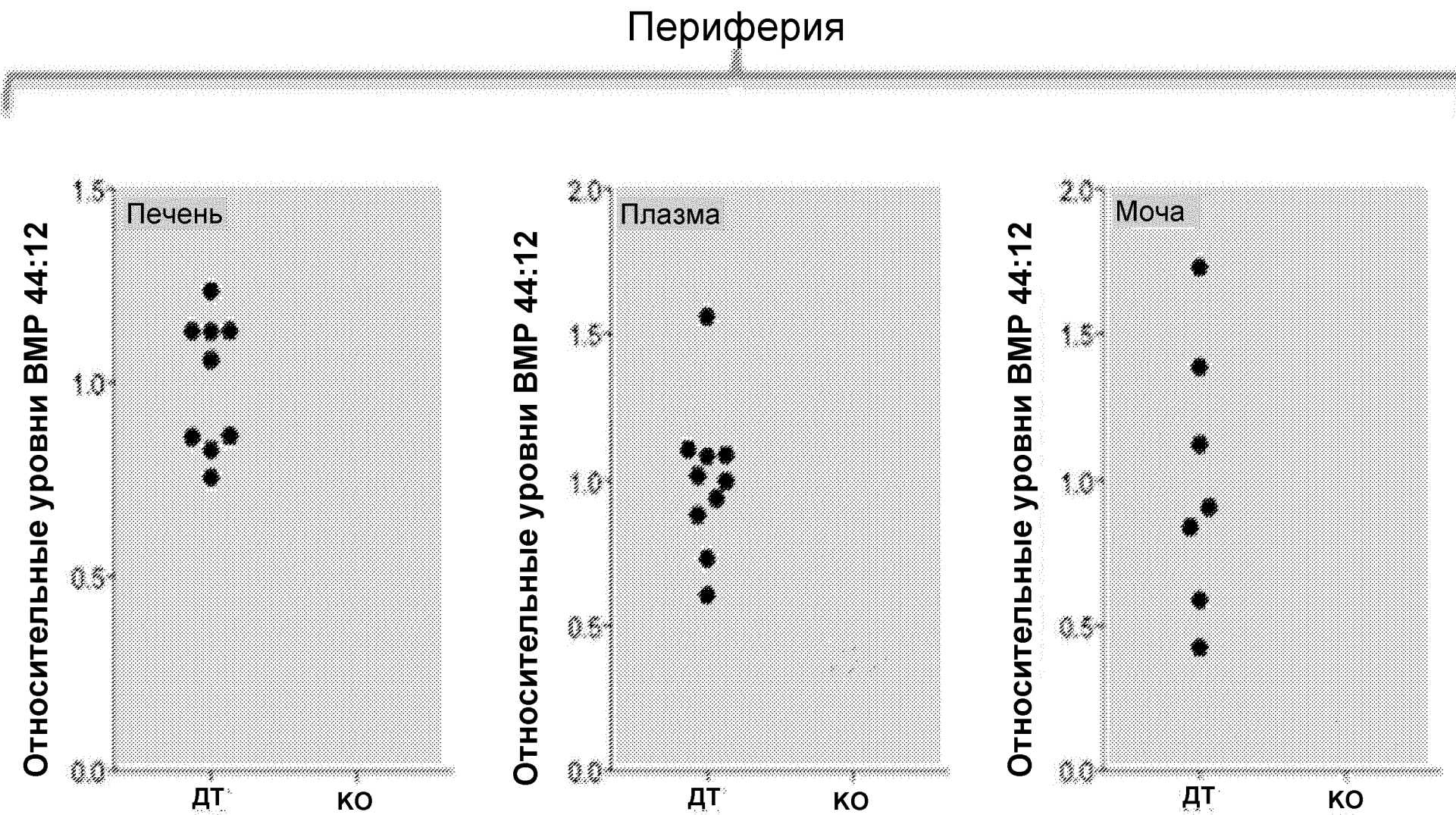
Среднее значение $\pm$ CO, N = 3 техн. повт.

ФИГ. 13D

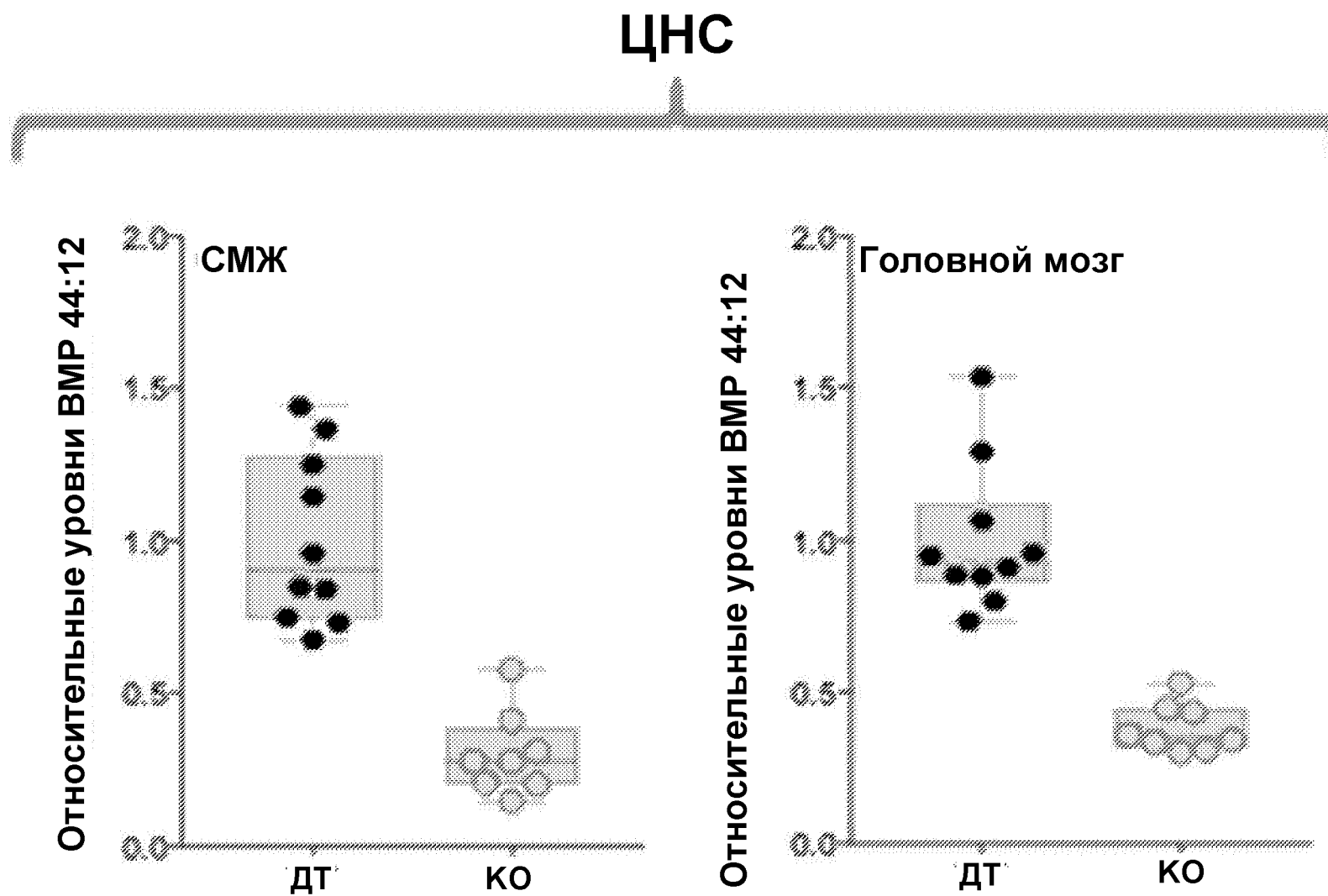
BMDM KO GRN, уровни BMP 36:2 (18:1)

Среднее значение $\pm$ CO, N = 3 техн. повт.

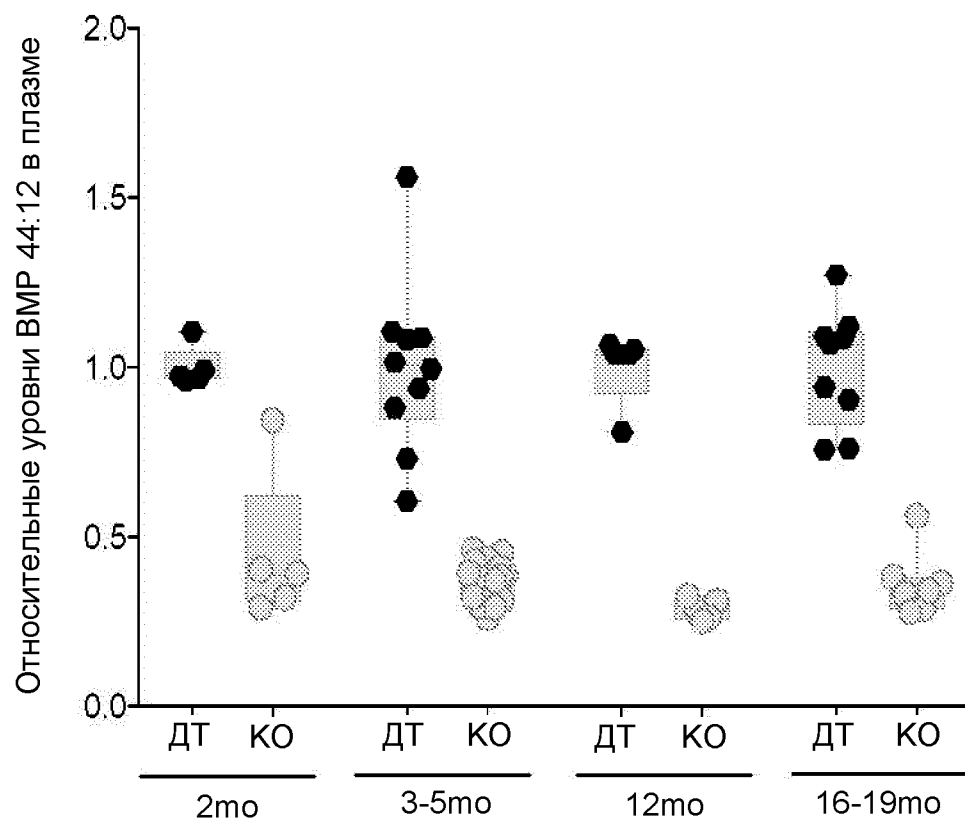
ФИГ. 14А



ФИГ. 14В



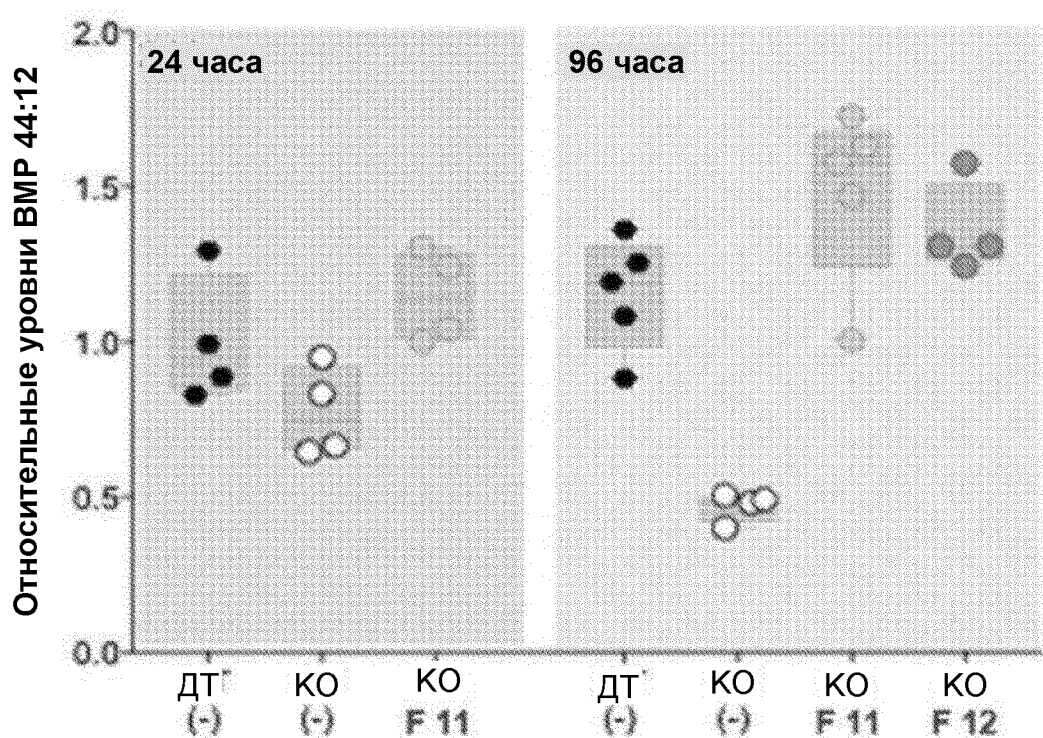
ФИГ. 15



ФИГ. 16А

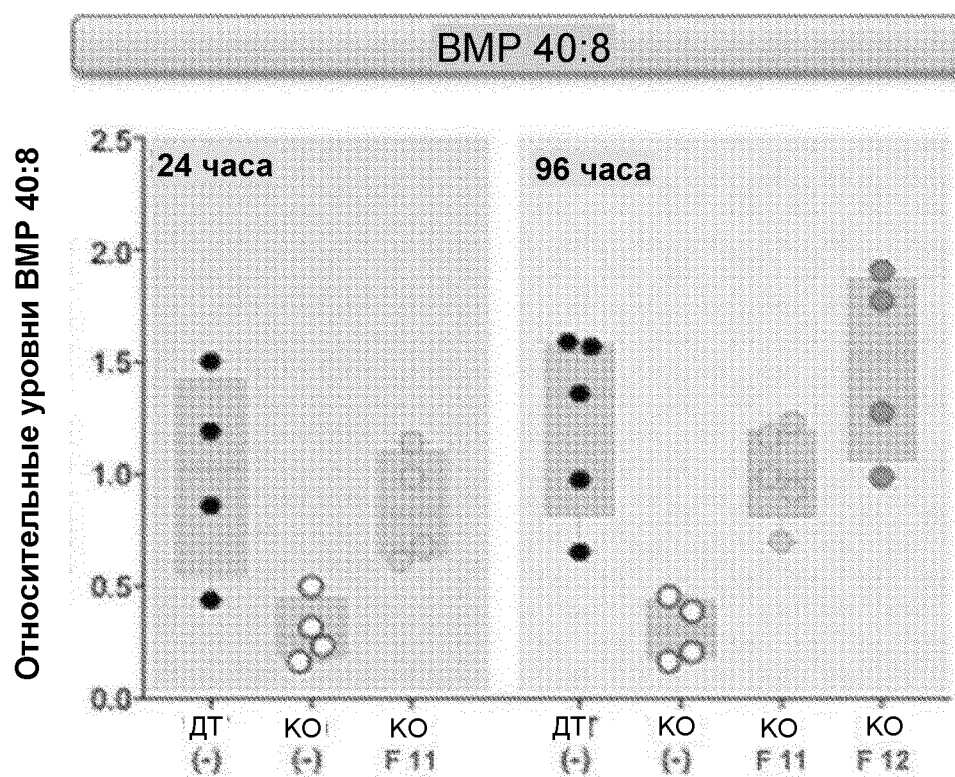
BMP в печени

BMP 44:12



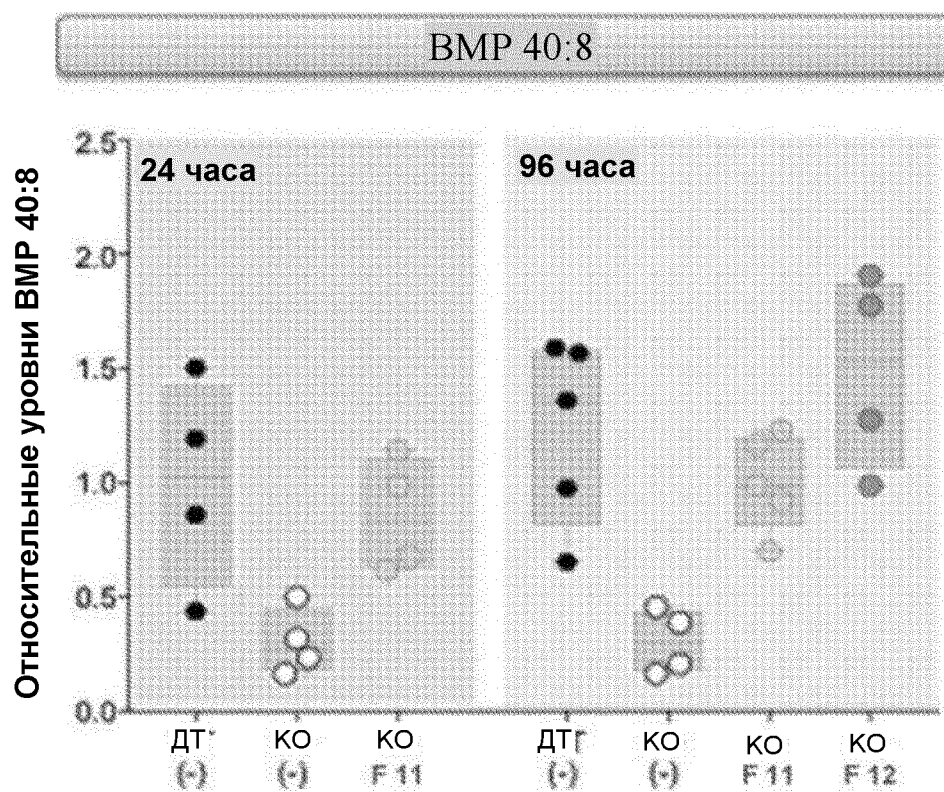
ФИГ. 16В

ВМР в печени

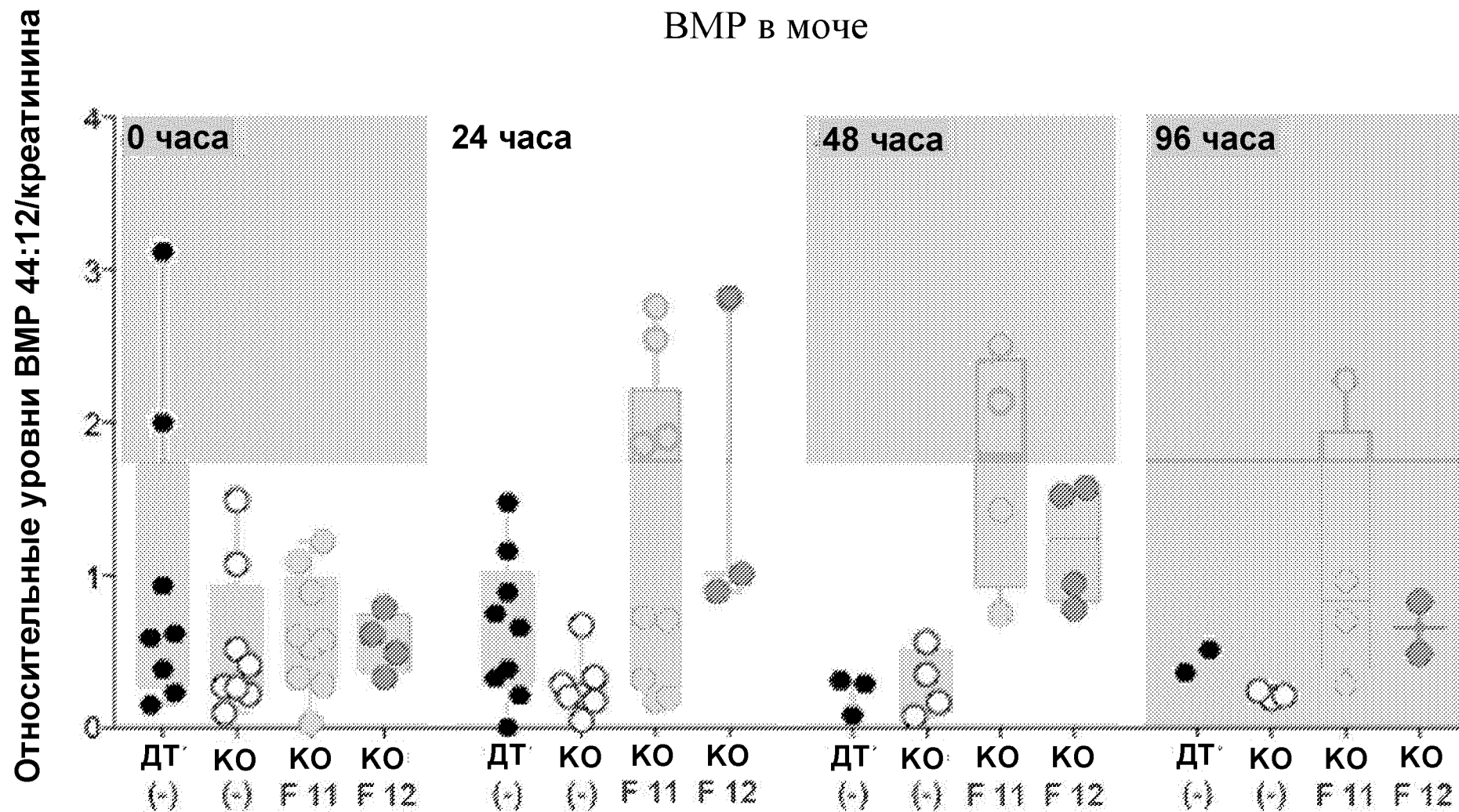


ФИГ. 17

ВМР в плазме

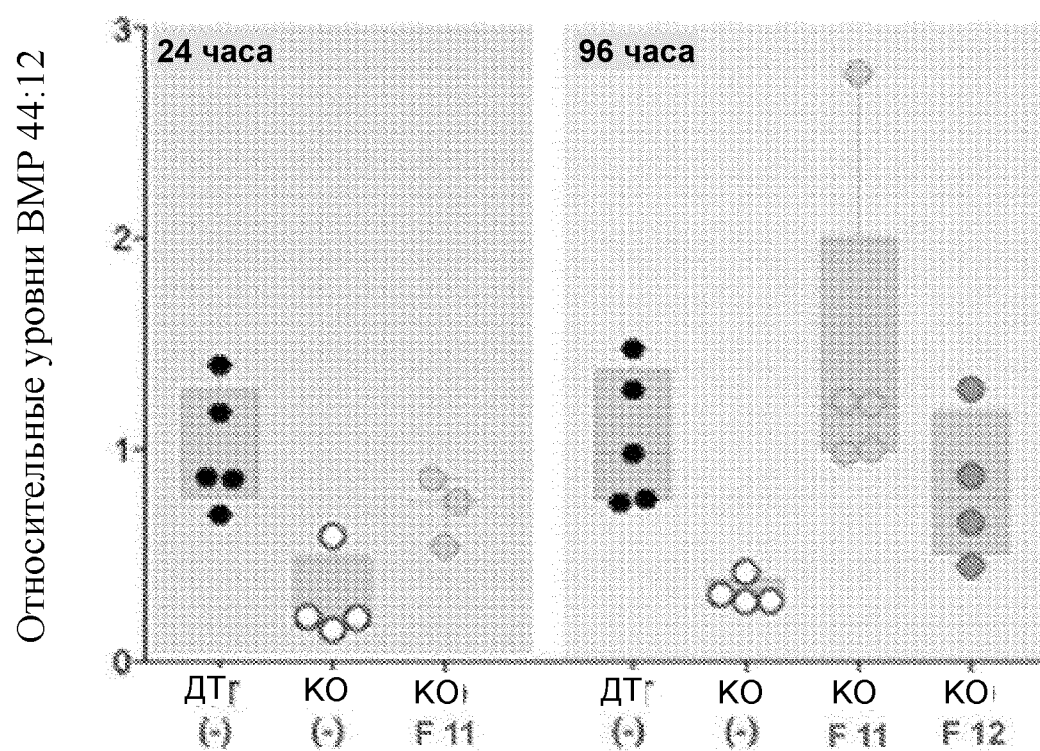


ФИГ. 18



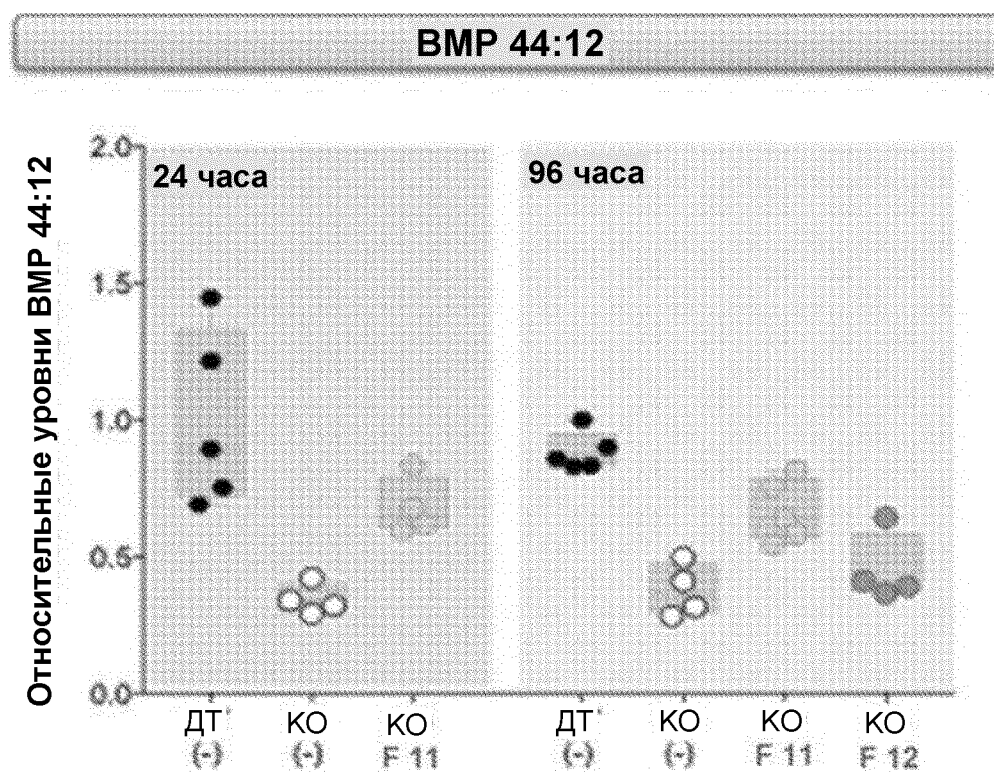
ФИГ. 19

ВМР в СМЖ



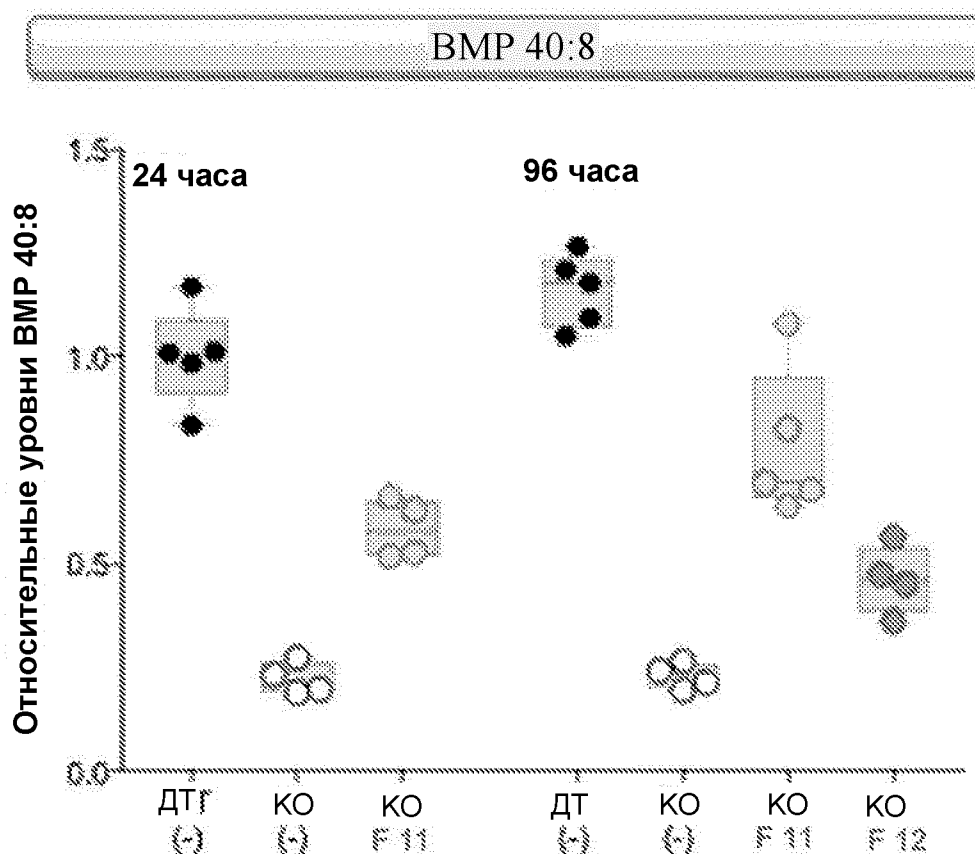
ФИГ. 20А

ВМР в головном мозге

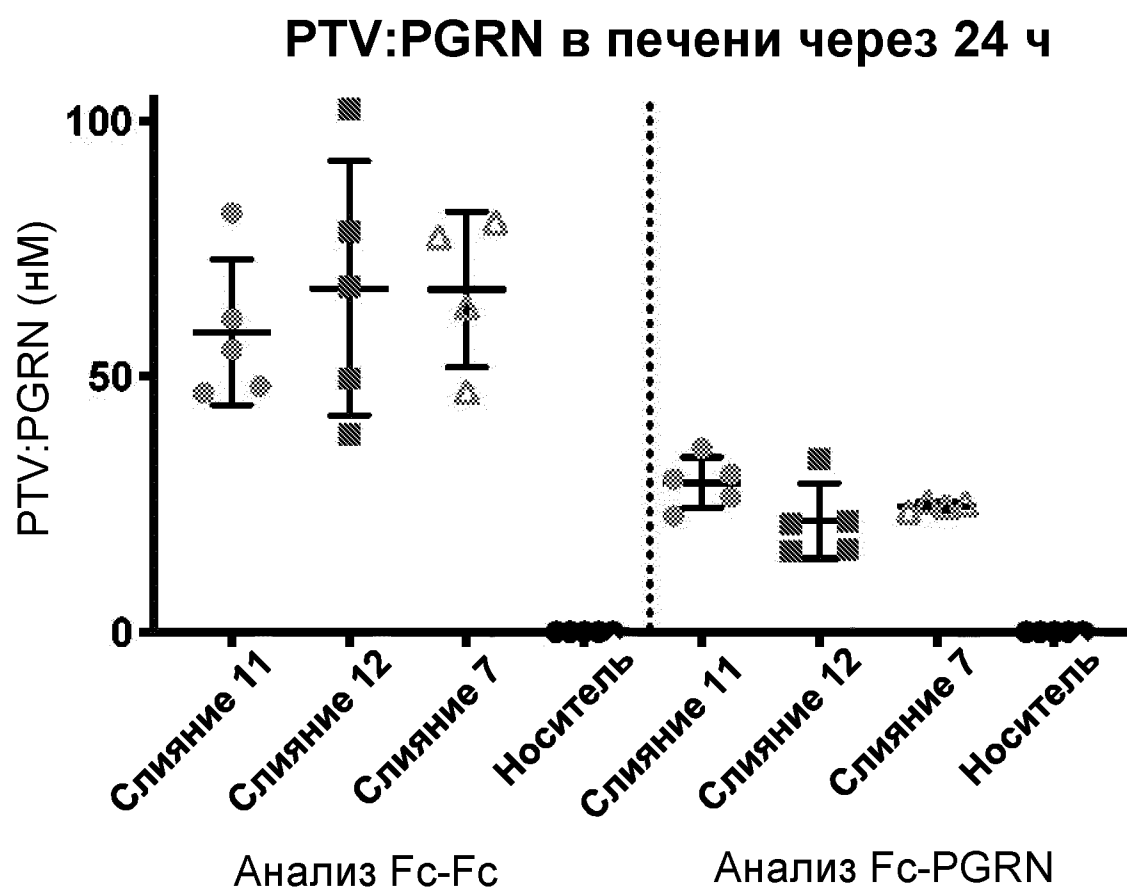


ФИГ. 20В

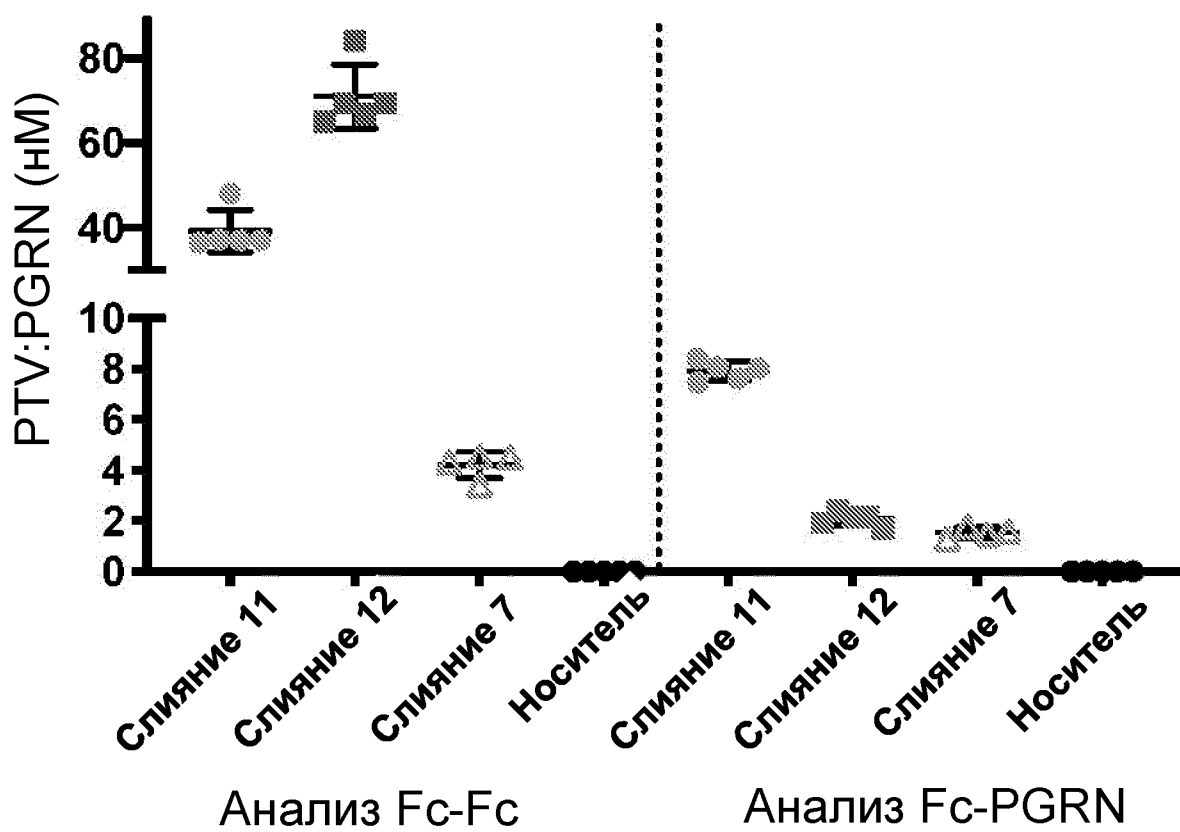
ВМР в головном мозге



ФИГ. 21А



ФИГ. 21В

PTV:PGRN в головном мозге через 24 ч

ФИГ. 21С

PTV:PGRN в плазме через 24 ч