

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 043015

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.04.19

(21) Номер заявки
201792221

(22) Дата подачи заявки
2016.04.07

(51) Int. Cl. *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01)
A61K 38/12 (2006.01)
C12N 5/02 (2006.01)

(54) АНТИТЕЛА ПРОТИВ СОРТИЛИНА И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 62/144,270

(32) 2015.04.07

(33) US

(43) 2018.08.31

(86) PCT/US2016/026519

(87) WO 2016/164637 2016.10.13

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭЛЕКТОР ЭлЭлСи (US)

(72) Изобретатель:
Розенталь Арнон (US), Швабе Тина
(DE), Карнеллас Майкл, Купер
Энтони, Пейхал Роберт (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) US-A1-20120039865
US-A1-20090055944
US-A1-20100092481
US-A1-20100028333
WO-A1-2015144860

(57) Изобретение в целом относится к композициям, которые включают антитела, например моноклональные, химерные, гуманизированные антитела, фрагменты антител и т.д., которые специфически связывают один или более эпитопов в пределах белка сортилина, например сортилина человека или сортилина млекопитающего, и к применению таких композиций для предотвращения, снижения риска или лечения индивида, нуждающегося в этом.

043015 B1

043015 B1

043015

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Заявка на данный патент испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США №62/144270, поданной 7 апреля 2015 г., которая тем самым включена в полном объеме путем ссылки.

Представление перечня последовательностей в текстовом файле формата ASCII

Содержание следующего документа в текстовом файле формата ASCII включено в полном объеме путем ссылки: в машиночитаемой форме (CRF) списка последовательностей (имя файла: 735022000240SEQLIST.TXT, дата записи: 6 апреля 2016 г., размер: 345 KB).

Область техники

Настоящее изобретение относится к антителам против сортилина и терапевтическому применению таких антител.

Уровень техники

Сортилин представляет собой трансмембранный белок I типа, действующий как рецептор нескольких лигандов и участвующий в сортировке выбранного продукта переноса из сети транс-Гольджи (TGN) к поздним эндосомам и лизосомам для деградации. Сортилин содержит большой внеклеточный домен, который является частью семейства VPS10, гомологичной дрожжевому VPS10P, и содержит 10-лопастную бета-пропеллерную структуру и богатый цистеином модуль 10CC (Nykjaer, A et al., (2012) Trends Neurosci 35: 261-270; и Zheng, Y et al., (2011) PLoS One 6: e21023). Небольшая фракция сортилина может сбрасываться в результате активности ADAM10 или гамма-секретазы (<5%) (Nykjaer, A et al., (2012) Trends Neurosci 35: 261-270; и Willnow, TE et al., (2011) Curr Opin Lipidol 22: 79-85).

Сортилин связывает секреторируемый белок програнулин (PGRN) и нацеливает его на лизосомную деградацию, таким образом, регулируя путем отрицательной связи уровни PGRN (Hu, F et al., (2010) Neuron 68, 654-667. Наряду с этим, дефицит сортилина значительно увеличивает уровни PGRN в плазме как в мышиных моделях *in vivo*, так и в клетках человека *in vitro* (Carrasquillo, M. M et al., (2010) Am J Hum Genet 87, 890-897; Lee, W. C et al., (2014) 23, 1467-1478). Более того, как показано, полиморфизм сортилина сильно связан с уровнями PGRN в сыворотке у людей (Carrasquillo MM et al., 2010), Am J Hum Genet. 10; 87(6): 890-7).

Програнулин (PGRN) представляет собой секреторируемый, подобный фактору роста, трофический и противовоспалительный белок, который также играет роль в качестве адипокина, вовлеченного в алиментарное ожирение и резистентность к инсулину (Nguyen DA et al., (2013). Trends in Endocrinology and Metabolism, 24, 597-606). Дефицит програнулина отвечает за, примерно, 25% всех наследственных форм лобно-височной деменции (FTD), нейродегенеративного заболевания с ранним началом. Пациенты с гетерозиготными мутациями потери функционирования PGRN имеют на ~50% сниженные внеклеточные уровни белка и у них всегда будет развиваться FTD, что делает PGRN геном, обуславливающим данное заболевание (Baker, M et al., (2006) Nature 442, 916-919; Carecchio M et al., (2011) J Alzheimer's Dis 27, 781-790; Cruts, M et al., (2008) Trends Genet 24, 186-194; Galimberti, D et al., (2010) J Alzheimer's Dis 19, 171-177). В дополнение к этому, были идентифицированы мутантные аллели по PGRN у пациентов с заболеванием Альцгеймера (Seelaar, H et al., (2011). Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry 82, 476-486). Важно отметить, что PGRN действует как защитный фактор в нескольких моделях заболеваний с увеличенными уровнями PGRN, ускоряя поведенческое восстановление от последствий ишемии (Tao, J et al., (2012) Brain Res 1436, 130-136; Egashira, Y. et al., (2013). J Neuroinflammation 10, 105), подавляя локомоторные недостатки на модели болезни Паркинсона (Van Kampen, J. M et al., (2014). PLoS One 9, e97032), ослабляя патологию на модели бокового амиотрофического склероза (Laird, A. S et al., (2010). PLoS One 5, e13368) и артрита (Tang, Wet al., (2011). Science 332, 478-484) и предотвращая нарушения памяти на модели Альцгеймера (Minami, S. S et al., 2014). Nat Med 20, 1157-1164).

Сортилин также непосредственно связывается с пронеуротрофинами, такими как профактор роста нервов (pro-NGF), pro-BDNF, пронеуротрофин-3, и т.д., которые содержат продомен и обычно являются про-апоптотическими. Такие предшественники пронеуротрофинов высвобождаются во время стресса, а сортилин вовлекается в регулирование их высвобождения, а также связывания на воспринимающей клетке и стимуляции апоптоза в сочетании с p75NTR (Willnow, TE et al., (2008) Nat Rev Neurosci 9: 899-909; Nykjaer, A et al., Trends Neurosci 35: 261-270; и Nykjaer, A et al., (2004) Nature 427: 843-848; Hiroko Yano et al., (2009) J Neurosci.; 29: 14790-14802. Teng H. K., et al., J. Neurosci. 25: 5455-5463(2005)). Сортилин также непосредственно связывается с p75NTR (Skeldal S et al., (2012) J Biol Chem.; 287: 43798). Сортилин также связывается с нейротенином на участке, который частично перекрывается с участком связывания програнулина (Quistgaard, EM et al., (2009) Nat Struct Mol Biol 16: 96-98; и Zheng, Y et al., PLoS One 6: e21023). Сортилин также взаимодействует с Trk-рецепторами NTRK1, NTRK2 и NTRK3; и может управлять их anterograde аксональным транспортом и передачей сигнала (Vaegter, CB et al., (2011) Nat. Neurosci. 14: 54-61). Сортилин также взаимодействует и управляет процессингом и миграцией амилоидного белка-предшественника и приводит к продукции патологических бета-амилоидных пептидов (Gustafsen C et al., (2013). J Neurosci. 2; 33(1): 64-71).

Как показано, сортилин связывается с аполипопротеинами и липопротеиновой липазой и, таким образом, его дефицит ведет к пониженному высвобождению VLDL из печени и пониженному уровню холестерина (Willnow, TE et al., (2011) Curr Opin Lipidol 22: 79-85; Kjolby, M et al., (2010) Cell Metab 12:

213-223; Nilsson, SK et al., (2007) *Biochemistry* 46: 3896-3904.; Nilsson, SK et al., (2008) *J Biol Chem* 283: 25920-25927; и Klinger, SC et al., (2011) *J Cell Sci* 124: 1095-1105). Недавно установили, что сортилин непосредственно связывается с APP (Gustafsen, C et al., (2013) *J. Neurosc.* 33: 64-71), а также с процессирующим APP ферментом BACE1 (Gustafsen, C et al., (2013) *J. Neurosc.* 33: 64-71; и Finan, GM et al., *J Biol Chem* 286: 12602-12616). Сортилин также связывается с аполипопротеином E (APOE), с A-бета-пептидом (Carlo, AS et al., (2013) *J. Neurosc.* 33: 358-370) и с PCSK9 (Gustafsen et al, (2014) *Cell Metab.* 19: 310-318). Показано, что сортилин связывается и управляет внеклеточными уровнями PCSK9, который направляет рецептор липопротеинов низкой плотности на деградацию в лизосомы, приводя к повышенным уровням холестерина-ЛНП (Gustafsen C et al., (2014). *Cell Metab.* 2014 Feb 4; 19(2): 310-8).

Когда сортилин присутствует во внутриклеточных везикулах, таких как эндосомы, то его аминоконцевой внеклеточный домен направлен в сторону просвета, в котором присутствует продукт везикулы. Однако карбоксиконцевой внутриклеточный/цитоплазматический домен сортилина, связывается с рядом адаптерных белков, которые управляют миграцией из поверхности и в пределах внутриклеточных компартментов. Эти белки включают AP2 (клатриновый адаптер для модуляции эндоцитоза из клеточной поверхности) и ретромерный комплекс/AP1, который модулирует перемещение из ранних в аппарат Гольджи для рециклирования; и взаимодействует с семейством белков GGA (локализованный в аппарате Гольджи, содержащий гамма-ухо, ADP-рибозилированный фактор связывания) для перемещения из аппарата Гольджи непосредственно в ранние эндосомы, обычно для последующей деградации посредством лизосом. Таким образом, сортилин может связываться с лигандами в их люминальном домене, при этом задействуя цитоплазматические адаптеры, которые определяют их конечное назначение для определения внутриклеточных изменений, таких как деградация програнулина и других факторов.

Несмотря на различные взаимодействия с белками, такими как програнулин, показано, что сортилин и его многочисленные лиганды вовлечены в различные заболевания, нарушения и патологические состояния и условия, такие как лобно-височная деменция, боковой амиотрофический склероз, фенотипы бокового амиотрофического склероза-лобно-височной деменции, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, депрессии, нейропсихиатрические нарушения, сосудистую деменцию, эпилептические припадки, дистрофию сетчатки, возрастную макулярную дегенерацию, глаукому, травматическое повреждение мозга, старение, эпилептические припадки, нарушение заживления ран, инсульт, артрит атеросклеротические заболевания сосудов.

Соответственно, существует потребность в терапевтических антителах, которые специфически связывают сортилиновые белки и блокируют связывание сортилина с его лигандами, такими как програнулин, или иным образом модулирующие эффективную концентрацию лигандов, для лечения одного или более заболеваний, нарушений и патологических состояний, связанных с активностью сортилина.

Все цитируемые в данном документе ссылки, включая заявки на патенты и публикации, тем самым включены в данный документ в полном объеме путем ссылок.

Краткое описание сущности изобретения

Настоящее описание в целом относится к антителам против сортилина и способов использования таких антител. Предложенные в данном документе способы находят применение для предупреждения, снижения риска или лечения индивида, имеющего лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, эпилептические припадки, дистрофию сетчатки, травматическое повреждение мозга, повреждение спинного мозга, длительную депрессию, атеросклеротические заболевания сосудов, нежелательные симптомы естественного старения, деменцию, смешанную деменцию, болезнь Крейтцфельда-Якоба, нормотензивную гидроцефалию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Хантингтона, таупатию, инсульт, острую травму, хроническую травму, волчанку, острый и хронический колит, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, неспецифический язвенный колит, малярию, эссенциальный тремор, волчанку центральной нервной системы, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, множественную системную атрофию, синдром Шая-Дрейджера, прогрессирующий супрануклеарный паралич, кортикальную базальную ганглионарную дегенерацию, острый рассеянный энцефаломиелит, связанные с гранулематозом нарушения, саркоидоз, болезни старения, возрастную макулярную дегенерацию, глаукому, пигментный ретинит, дегенерацию сетчатки, инфекцию дыхательных путей, сепсис, глазную инфекцию, системную инфекцию, воспалительные нарушения, артрит, рассеянный склероз, нарушения метаболизма, ожирение, резистентность к инсулину, диабет 2 типа, повреждения тканей или сосудов, ранение, дегенерацию межпозвоночных дисков или один или более нежелательных симптомов естественного старения.

Некоторые аспекты по настоящему описанию основаны, по меньшей мере частично, на идентификации антител против сортилина, которые способны блокировать взаимодействие между сортилином и програнулином (см., например, пример 4), антитела против сортилина, которые способны к увеличению внеклеточных уровней програнулина, секретируемого клетками в культуре и из клеток головного мозга, мышинных моделей болезни Альцгеймера (см., например, пример 5), антитела против сортилина, которые способны уменьшать клеточные уровни сортилина в первичных моноцитах человека (см., например, пример 25), и антитела против сортилина, которые способны увеличивать клеточные уровни програнулина *in vivo* (см., например, пример 26). Неожиданно обнаружено, что один класс антител показал спо-

способность увеличивать внеклеточные уровни програнулина без способности блокировать взаимодействие между сортилином и програнулином (например, антитела S-2, S-15 и S-22), тогда как второй класс антител показал способность как блокировать взаимодействие между сортилином и програнулином, так и увеличивать внеклеточные уровни програнулина (например, антитела S-8, S-49 и S-60). Более того, антитела против сортилина, способные увеличивать внеклеточные уровни програнулина (например, антитела S-2, S-8, S-15, S-22, S-49 и S-60), неожиданно показали также снижение клеточных уровней сортилина, таких как уровни сортилина на клеточной поверхности (см., например, пример 5). Кроме того, показано, что клеточные уровни сортилина сильно и обратимо коррелировали с увеличениями клеточных уровней програнулина (см., например, фиг. 10B-10E и фиг. 23B и 23C). Антитела против сортилина, способные увеличивать внеклеточные уровни програнулина, также способны блокировать про-NGF, связывающийся с сортилином (см., например, пример 6). Другие аспекты по настоящему описанию основаны, по меньшей мере частично, на идентификации антител против сортилина, которые блокируют взаимодействие между сортилином и програнулином и способны увеличивать внеклеточные уровни програнулина без снижения клеточных уровней сортилина (например, антитело S-30 и Пример 30). Другие аспекты по настоящему описанию основаны, по меньшей мере частично, на идентификации антител против сортилина, которые блокируют взаимодействие между сортилином и програнулином без увеличения внеклеточных уровней програнулина или снижения клеточных уровней сортилина (например, антитело S-5 и S-64 и Пример 5).

Соответственно, некоторые аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина обладает свойством, выбранным из группы, состоящей из: увеличения внеклеточных уровней програнулина, увеличения клеточных уровней програнулина, уменьшения клеточных уровней сортилина, ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином и любой их комбинации.

В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело уменьшает уровни сортилина на клеточной поверхности, уменьшает внутриклеточные уровни сортилина, уменьшает общие уровни сортилина или создает любую комбинацию из них. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина индуцирует деградацию сортилина, расщепление сортилина, интернализацию сортилина, снижение регуляции сортилина и любую их комбинацию. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина уменьшает клеточные уровни сортилина и не ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина уменьшает клеточные уровни сортилина и ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина уменьшает клеточные уровни сортилина и увеличивает клеточные уровни програнулина. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина увеличивает клеточные уровни програнулина и не ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином и увеличивает клеточные уровни програнулина. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина увеличивает уровни програнулина *in vivo*. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина увеличивает уровни програнулина *in vivo* без уменьшения клеточных уровней сортилина. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина увеличивает уровни програнулина в головном мозге. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина увеличивает клеточные уровни програнулина в крови. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина увеличивает клеточные уровни програнулина в одном или более периферических органов. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина увеличивает уровни програнулина в головном мозге, крови, одном или более периферических органов, или любой их комбинации. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина уменьшает клеточные уровни сортилина *in vivo*. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против

ем модели *in vivo*. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина дополнительно ингибирует взаимодействие между сортилином и профактором роста нервов (pro-NGF). В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина дополнительно ингибирует взаимодействие между сортилином и одним или более белков из группы, состоящей из пронеуротрофина, нейротрофина, фактора роста нервов (NGF), нейротрофического профактора головного мозга (pro-BDNF), нейротрофического фактора головного мозга (BDNF), пронеуротрофина-3, нейротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, нейротрофина-4/5, нейротензина, нейротензина, p75, сортилинового пропептида (Sort-про), амилоидного белка-предшественника (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9 и связанного с рецептором белка (RAP). В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина дополнительно ингибирует взаимодействие между сортилином и одним или более белков путем: а) снижения эффективных уровней сортилина, доступного для взаимодействия с одним или более белков; б) индуцирования деградации сортилина; или обоих вариантов. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина ингибирует клеточную секрецию PCSK9, ингибирует продукцию А-бета-пептида или их обоих. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина специфически связывается с сортилином человека, сортилином мыши или их обоих. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина представляет собой антитело человека, гуманизированное антитело, биспецифическое антитело, моноклональное антитело, поливалентное антитело, конъюгированное антитело или химерное антитело. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина представляет собой биспецифическое антитело, распознающее первый антиген и второй антиген. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, первый антиген представляет собой сортилин, а второй антиген представляет собой антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, второй антиген выбирают из группы, состоящей из сортилина, рецептора трансферрина (TR), инсулинового рецептора (HIR), рецептора инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белков 1 и 2 подобных рецептору липопротеинов низкой плотности (LPR-1 и 2), рецептора дифтерийного токсина, CRM197, однодоменного антитела ламы, TMEM 30(A), белкового домена трансдукции, TAT, Syn-B, пентратина, полиаргининового пептида, пептида ангиопеп, базигина, Glut1, CD98hc и ANG1005. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина представляет собой фрагмент антитела, который связывается с эпитопом, содержащим аминокислотные остатки на сортилине человека или белке сортилина млекопитающего. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, фрагмент представляет собой фрагмент Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv или scFv. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина дополнительно содержит одну или более активностей, выбранных из группы, состоящей из: (а) индукции одного или более активностей програнулина; (б) снижения эндосомной интернализации програнулина или его фрагментов; и (с) увеличения эффективной концентрации програнулина.

В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина связывает прерывистый сортилиновый эпитоп. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, прерывистый сортилиновый эпитоп содержит два или более пептидов, три или более пептидов, четыре или более пептидов, пять или более пептидов, шесть или более пептидов, семь или более пептидов, восемь или более пептидов, девять или более пептидов, или 10 или более пептидов. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, каждый из пептидов содержит пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более, 14 или более, 15 или более, 16 или более, 17 или более, 18 или более, 19 или более, 20 или более, 21 или более, 22 или более, 23 или более, 24 или более, 25 или более, 26 или более, 27 или более, 28 или более, 29 или более, или 30 или более аминокислотных остатков аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1; или пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более, 14 или более, 15 или более, 16 или более, 17 или более, 18 или более, 19 или более, 20 или более,

21 или более, 22 или более, 23 или более, 24 или более, 25 или более, 26 или более, 27 или более, 28 или более, 29 или более, или 30 или более аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина связывается с конформационным эпитопом сортилина. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина связывается с одной или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из: i) аминокислотных остатков 740-749 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 740-749 из SEQ ID NO: 1; ii) аминокислотных остатков 623-632 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 623-632 из SEQ ID NO: 1; iii) аминокислотных остатков 429-443 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 429-443 из SEQ ID NO: 1; iv) аминокислотных остатков 367-391 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 367-391 из SEQ ID NO: 1; v) аминокислотных остатков 314-338 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 314-338 из SEQ ID NO: 1; vi) аминокислотных остатков 297-317 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 297-317 из SEQ ID NO: 1; vii) аминокислотных остатков 237-260 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 237-260 из SEQ ID NO: 1; viii) аминокислотных остатков 237-260 и 297-317 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 237-260 и 297-317 из SEQ ID NO: 1; ix) аминокислотных остатков 237-247 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 237-247 из SEQ ID NO: 1; x) аминокислотных остатков 237-247 и 314-338 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 237-247 и 314-338 из SEQ ID NO: 1; xi) аминокислотных остатков 233-243 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 233-243 из SEQ ID NO: 1; xii) аминокислотных остатков 212-221 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 212-221 из SEQ ID NO: 1; xiii) аминокислотных остатков 207-227 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 207-227 из SEQ ID NO: 1; xiv) аминокислотных остатков 207-227 и 237-260 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 207-227 и 237-260 из SEQ ID NO: 1; xv) аминокислотных остатков 207-231 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 207-231 из SEQ ID NO: 1; xvi) аминокислотных остатков 175-181 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 175-181 из SEQ ID NO: 1; и xvii) аминокислотных остатков 131-138 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 131-138 из SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина связывается с одним или более аминокислотными остатками, выбранными из группы, состоящей из H131, V132, P133, L134, V135, I136, M137, T138, T210, T218, Y222, S223, S227, S242, K243, K248, K254, S305, R311, S316, R325, S379, R382, Y386 и S595 из SEQ ID NO: 1, или одним или более аминокислотными остатками на белке сортилине млекопитающего, соответствующими аминокислотным остаткам, выбранным из группы, состоящей из H131, V132, P133, L134, V135, I136, M137, T138, T210, T218, Y222, S223, S227, S242, K243, K248, K254, S305, R311, S316, R325, S379, R382, Y386 и S595 из SEQ ID NO: 1.

В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина содержит по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR антитела, выбранного из группы, состоящей из: S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 9-12, 14 и 15; (b) HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26, 27, 29, 30 и 32; (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 45, 46, 48, 85, 89, 100, 103-105, 112 и 123; (d) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126, 127, 136, 140, 142, 145 и 148; (e) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 151, 152, 163, 166, 169, 170, 173 и 175; или (f) HVR-H3, содержащий аминокислотную последователь-

- 7 -

107, 109, 111-116, 118 и 121-125, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-50, 52, 54-56, 58-62, 64-66, 68-70, 72, 74, 79-80, 82-85, 88-91, 95, 97-101, 103-107, 109, 111-116, 118 и 121-125; и при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145 и 147-149, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145 и 147-149; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175 и 177-178, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175 и 177-178; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219, 222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249 и 252-256, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219, 222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249 и 252-256.

В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина конкурирует за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-6, S-8, S-49, S-60, S-63, S-72, S-83, и любой их комбинации. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина конкурирует за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-5, S-45, S-64, S-65, и любой их комбинации. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина конкурирует за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-5, S-30, S-60, и любой их комбинации.

Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина содержит по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR антитела, выбранного из группы, состоящей из: S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-12, S-14, S-15, S-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-24, S-25, S-26, S-28, S-29, S-30, S-32, S-34, S-39, S-40, S-42, S-43, S-44, S-45, S-48, S-49, S-50, S-51, S-55, S-57, S-58, S-59, S-60, S-61, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-69, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-78, S-81, S-82, S-83, S-84 и S-85. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6-16, 20-22 и 24-25; (b) HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-40; (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-50, 52, 54-56, 58-62, 64-66, 68-70, 72, 74, 79-80, 82-85, 88-91, 95, 97-101, 103-107, 109, 111-116, 118 и 121-125; (d) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145 и 147-149; (e) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175 и 177-178; или (f) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219, 222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249 и 252-256. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6-16, 20-22 и 24-25, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6-16, 20-22 и 24-25; (b) HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-40, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-40; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-50, 52, 54-56, 58-62, 64-66, 68-70, 72, 74, 79-80, 82-85, 88-91, 95, 97-101, 103-107, 109, 111-116, 118 и 121-125, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-50, 52, 54-56, 58-62, 64-66, 68-70, 72, 74, 79-80, 82-85, 88-91, 95, 97-101, 103-107, 109, 111-116, 118 и 121-125; и при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145 и 147-149, или аминокислотную последовательность с по мень-

шей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145 и 147-149; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175 и 177-178, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175 и 177-178; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219, 222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249 и 252-256, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219, 222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249 и 252-256. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина содержит переменный домен легкой цепи и/или переменный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 317-334, 337-338, 341-345, 348-357, 360-365, 368-372, 375-376, 379-380, 389-392, 395-402, 407-414, 421-422, 425-433, 436-444, 447-448, 451-461, 464-465 и 470-479.

Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина конкурирует за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-2, S-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-28, S-29, S-82, и любой их комбинацией. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина конкурирует за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-1, S-3, S-4, S-6, S-7, S-9, S-10, S-14, S-15, S-26, S-32, S-48, S-51, S-55, S-57, S-58, S-59, S-61, S-69, S-71, S-73, S-74, S-75, S-85, и любой их комбинацией. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина конкурирует за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-5, S-12, S-24, S-25, S-30, S-34, S-39, S-40, S-42, S-43, S-44, S-45, S-60, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-72, S-76, S-78, S-81, S-83, S-84, и любой их комбинацией. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина конкурирует за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-8, S-49, S-50, и любой их комбинацией. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, которое по существу связывается с таким же эпитопом сортилина, что и антитело, выбранное из группы, состоящей из: S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-12, S-14, S-15, S-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-24, S-25, S-26, S-28, S-29, S-30, S-32, S-34, S-39, S-40, S-42, S-43, S-44, S-45, S-48, S-49, S-50, S-51, S-55, S-57, S-58, S-59, S-60, S-61, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-69, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-78, S-81, S-82, S-83, S-84 и S-85.

Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина содержит переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6-16, 20-22 и 24-25, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6-16, 20-22 и 24-25; (b) HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-40, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-40; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-50, 52, 54-56, 58-62, 64-66, 68-70, 72, 74, 79-80, 82-85, 88-91, 95, 97-101, 103-107, 109, 111-116, 118 и 121-125, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-50, 52, 54-56, 58-62, 64-66, 68-70, 72, 74, 79-80, 82-85, 88-91, 95, 97-101, 103-107, 109, 111-116, 118 и 121-125; или при этом переменный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145 и 147-149, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145 и 147-149; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175 и 177-178, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175 и 177-178; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219,

222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249 и 252-256, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219, 222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249 и 252-256.

Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, которое ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином, увеличивает уровни програнулина и уменьшает клеточные уровни сортилина, причем антитело против сортилина содержит по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR антитела, выбранного из группы, состоящей из: S-8, S-49 и S-60. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 11; (b) содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 26; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 48; и при этом переменный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 127; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 152; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 185. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 6; (b) содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 26; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 89; и при этом переменный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 140; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 166; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 223. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 10; (b) содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 30; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 100; и при этом переменный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 142; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 147; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 233. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, которое ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином, увеличивает уровни програнулина и уменьшает клеточные уровни сортилина, причем антитело против сортилина конкурирует за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-8, S-49, S-60, и любой их комбинации. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, которое ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином, увеличивает уровни програнулина и уменьшает клеточные уровни сортилина, причем антитело против сортилина связывается с одним или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из: i. аминокислотных остатков 429-443 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилина млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 429-443 из SEQ ID NO: 1; ii. аминокислотных остатков 232-243 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилина млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 232-243 из SEQ ID NO: 1; и iii. аминокислотных остатков 207-231 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилина млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 207-231 из SEQ ID NO: 1.

Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, которое увеличивает уровни програнулина и уменьшает клеточные уровни сортилина без ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, причем антитело против сортилина содержит по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR антитела, выбранного из группы, состоящей из: S-2, S-19 и S-22. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 7; (b) содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 27; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 42; и при этом переменный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 126; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 150; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 180. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, причем переменный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 7; (b) содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 35; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 59; и при этом переменный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную по-

последовательность из SEQ ID NO: 130; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 158; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 194. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 7; (b) содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 27; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 61; и при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 130; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 157; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 196. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, которое увеличивает уровни програнулина и уменьшает клеточные уровни сортилина без ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, причем антитело против сортилина конкурирует за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-2, S-19, S-22, и любой их комбинации. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, которое увеличивает уровни програнулина и уменьшает клеточные уровни сортилина без ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, причем антитело против сортилина связывается с одним или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из: i. аминокислотных остатков 237-260 и 297-317 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилина млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 237-260 и 297-317 из SEQ ID NO: 1; и ii. аминокислотных остатков 207-227 и 237-260 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилина млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 207-227 и 237-260 из SEQ ID NO: 1.

Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, которое ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином без увеличения уровней програнулина и без уменьшения клеточных уровней сортилина, причем антитело против сортилина содержит по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR антитела, выбранного из группы, состоящей из: S-5 и S-64. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 10; (b) содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 30; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 45; и при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 126; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 151; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 182. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 15; (b) содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 27; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 104; и при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 142; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 169; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 236. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, которое ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином без увеличения уровней програнулина и без уменьшения клеточных уровней сортилина, причем антитело против сортилина конкурирует за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-5, S-64, и любой их комбинации.

Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, которое ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином и увеличивает уровни програнулина без уменьшения клеточных уровней сортилина, причем антитело против сортилина содержит по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR антитела S-30. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 10; (b) содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 30; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 70; и при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 136; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 163; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 204. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, которое ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином и увеличивает уровни програнулина без уменьшения клеточных уровней сортилина, причем антитело против сортилина конкурирует за связывание с сор-

тилином с антителом S-30.

Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из RASQSISSYLN (SEQ ID NO: 7); (b) HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность из AASSLQS (SEQ ID NO: 27); и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из QQSDVSPIT (SEQ ID NO: 42); и/или при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из YTFX₁X₂YX₃MX₄ (SEQ ID NO: 480), где X₁ представляет собой T, G, V, P, L, F, A или R, X₂ представляет собой G, A или S, X₃ представляет собой Y, M или L, а X₄ представляет собой H или W; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из X₁X₂X₃PX₄X₅GX₆TX₇YAQKFQG (SEQ ID NO: 481), где X₁ представляет собой W, I или G, X₂ представляет собой I, V или T, X₃ представляет собой N, G или L, X₄ представляет собой N, S, V или M, X₅ представляет собой S, G, W или Q, X₆ представляет собой G, F, A, Y, S, N или R, а X₇ представляет собой N, R, S или M; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из ARGKRSSGWYEGYGMDV (SEQ ID NO: 180). В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина имеет по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из (i) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L1 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14 и S-2-15; (ii) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L2 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14 и S-2-15; (iii) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L3 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14 и S-2-15; (iv) HVR-H1, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H1 из антитела выбранного из группы, состоящей из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14 и S-2-15; (v) HVR-H2, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H2 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14 и S-2-15; и (vi) HVR-H3, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H3 последовательностей из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14 и S-2-15. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина содержит вариабельный участок легкой цепи из любой одной из последовательностей антител из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14 и S-2-15; и/или вариабельный участок тяжелой цепи из любой одной из последовательностей антител из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14 и S-2-15. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из RASQSX₁X₂SNLA (SEQ ID NO: 508), где X₁ представляет собой V или I, а X₂ представляет собой S или G; (b) HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность из GASTRAT (SEQ ID NO: 29); и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из QQARLGPWT (SEQ ID NO: 55); и/или при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из YTX₁X₂X₃X₄X₅X₆S (SEQ ID NO: 509), где X₁ представляет собой F или L, X₂ представляет собой T или A, X₃ представляет собой S или K, X₄ представляет собой Y, T, R, L, T, G, Q или H, X₅ представляет собой Y, T или L, а X₆ представляет собой M или I; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из X₁INPX₂GGX₃X₄SYAX₅X₆FX₇G (SEQ ID NO: 510), где X₁ представляет собой I или V, X₂ представляет собой S, W, Y, V, F, L или I, X₃ представляет собой S или T, X₄ представляет собой T или A, X₅ представляет собой Q или R, X₆ представляет собой K или R, а X₇ представляет собой Q или R; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из X₁RD PX₂GX₃X₄X₅X₆X₇PX₈RX₉X₁₀X₁₁X₁₂GX₁₃DV (SEQ ID NO: 511), где X₁ представляет собой A, V или T, X₂ представляет собой S, F или G, X₃ представляет собой I или A, X₄ представляет собой A или G, X₅ представляет собой A, L или V, X₆ представляет собой A, L или P, X₇ представляет собой G, F или Y, X₈ представляет собой A, G или F, X₉ представляет собой S, G или A, X₁₀ представляет собой Y, G, P, H или S, X₁₁ представляет собой Y или N, X₁₂ представляет собой Y, L, Q или R, а X₁₃ представляет собой M или L. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина имеет по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из (i) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L1 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-

6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15 и S-15-16; (ii) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L2 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15 и S-15-16; (iii) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L3 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15 и S-15-16; (iv) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H1 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15 и S-15-16; (v) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H2 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15 и S-15-16; и (vi) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H3 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15 и S-15-16. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина содержит вариабельный участок легкой цепи любой одной из последовательностей антител из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15 и S-15-16; и/или вариабельный участок тяжелой цепи из любой одной из последовательностей антител из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15 и S-15-16. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из RASQSISSWLA (SEQ ID NO: 8); (b) HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность из KASSLES (SEQ ID NO: 28); и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из QQADGHIT (SEQ ID NO: 62); и/или при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из $X_1\text{TFX}_2X_3\text{YAX}_4X_5$ (SEQ ID NO: 565), где X_1 представляет собой G или Y, X_2 представляет собой S, R, G или T, X_3 представляет собой S, G или N, X_4 представляет собой I или M, а X_5 представляет собой S или A; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность $\text{GIX}_1\text{PX}_2\text{X}_3\text{GX}_4\text{AX}_5\text{YAQKFQG}$ (SEQ ID NO: 566), где X_1 представляет собой I или V, X_2 представляет собой I, R, G, A, S, T или Q, X_3 представляет собой F или G, X_4 представляет собой T, R или W, а X_5 представляет собой S, N, Q или W; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из ARQGRKTYGYYYYYGMDV (SEQ ID NO: 197). В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина имеет по меньшей

мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из (i) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L1 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8 и S-22-9; (ii) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L2 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8 и S-22-9; (iii) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L3 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8 и S-22-9; (iv) HVR-H1, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H1 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8 и S-22-9; (v) HVR-H2, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H2 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8 и S-22-9; и (vi) HVR-H3, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H3 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8 и S-22-9. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина содержит вариабельный участок легкой цепи из любой одной из последовательностей антител из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8 и S-22-9; и/или вариабельный участок тяжелой цепи из любой одной из последовательностей антител из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8 и S-22-9. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из RSSQX₁LLX₂SNGYNYLD (SEQ ID NO: 580), где X₁ представляет собой S или G и X₂ представляет собой H или R; (b) HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность из LGSNRXS (SEQ ID NO: 581), где X представляет собой A или V; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из MQQQETPLT (SEQ ID NO: 100); и/или при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из YSISSX₁X₂YWG (SEQ ID NO: 582), где X₁ представляет собой G или V, а X₂ представляет собой Y или R; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из X₁IYX₂SGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 583), где X₁ представляет собой T, S или A, а X₂ представляет собой H или P; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO: 233). В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина имеет по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из (i) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L1 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9; (ii) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L2 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9; (iii) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L3 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9; (iv) HVR-H1, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H1 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9; (v) HVR-H2, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H2 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9; и (vi) HVR-H3, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H3 из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина содержит вариабельный участок легкой цепи из любой одной из последовательностей антител из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9; и/или вариабельный участок тяжелой цепи из любой одной из последовательностей антител из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9. Другие аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к выделенному (например, моноклональному) антителу против сортилина, причем антитело против сортилина содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 14); (b) HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность из GASSRAT (SEQ ID NO: 26); и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из QQSHVSPWT (SEQ ID NO: 122); и/или при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из X₁SIX₂SX₃X₄YYWG (SEQ ID NO: 589), где X₁ представляет собой G или Y, X₂ представляет собой S, V, Y, K или P, X₃ представляет собой S или R, а X₄ представляет собой D или E; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из X₁IYX₂X₃GSTX₄YNPSLKS (SEQ ID NO: 590), где X₁ представляет собой S, G, Q или L, X₂ пред-

ставляет собой Y, W или R, X₃ представляет собой S, R, K или A, а X₄ представляет собой Y или V; и (с) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из ARGVSGSYGYRYFDY (SEQ ID NO: 253). В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина имеет по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из (i) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L1 антитела, выбранного из группы, состоящей из S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8; (ii) HVR-L2 содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L2 антитела, выбранного из группы, состоящей из S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8; (iii) HVR-L3 содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L3 антитела, выбранного из группы, состоящей из S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8; (iv) HVR-H1 содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H1 антитела, выбранного из группы, состоящей из S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8; (v) HVR-H2, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H2 антитела, выбранного из группы, состоящей из S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8; и (vi) HVR-H3, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H3 антитела, выбранного из группы, состоящей из S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина содержит переменный участок легкой цепи из любой одной из последовательностей антител из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8; и/или переменный участок тяжелой цепи из любой одной из последовательностей антител из антитела, выбранного из группы, состоящей из S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8.

В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, (a) антитело против сортилина имеет изотип IgG1 человека или мыши и содержит одну или более аминокислотных замен в Fc-участке в положении остатков, выбранных из группы, состоящей из: N297A, N297Q, D265A, L234A, L235A, C226S, C229S, P238S, E233P, L234V, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, L234F, L235E, P331S, T394D, A330L, M252Y, S254T, T256E, и их любой комбинации, причем нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU или Kabat; (b) антитело против сортилина имеет изотип IgG2 и содержит одну или более аминокислотных замен в Fc-участке в положении остатков, выбранных из группы, состоящей из: P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, T256E, и их любой комбинации, причем нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU или Kabat; или (с) антитело против сортилина имеет изотип IgG4 и содержит одну или более аминокислотных замен в Fc-участке в положении остатков, выбранных из группы, состоящей из: E233P, F234V, L234A/F234A, L235A, G237A, E318A, S228P, L236E, S241P, L248E, T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, N297Q, и их любой комбинации, причем нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU или Kabat. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, (a) Fc-участок дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен в положении, выбранном из группы, состоящей из A330L, L234F, L235E, P331S и любой их комбинации, причем нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU или Kabat; (b) Fc-участок дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен в положении, выбранном из группы, состоящей из M252Y, S254T, T256E и любой их комбинации, причем нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU или Kabat; или (с) Fc-участок дополнительно содержит аминокислотную замену S228P в соответствии с нумерацией EU или Kabat. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина уменьшает экспрессию одного или более провоспалительных медиаторов, выбранных из группы, состоящей из IL-6, IL12p70, IL12p40, IL-1 β , TNF- α , CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина обладает константой диссоциации (K_D) для сортилина человека, сортилина мыши или их обоих, значение которой лежит в диапазоне от около 100 нМ до около 0,005 нМ, или менее 0,005 нМ. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина обладает константой диссоциации (K_D) для сортилина человека, значение которой лежит в диапазоне от около 70,4 нМ до около 0,005 нМ, или менее 0,005 нМ. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина обладает константой диссоциации (K_D) для сортилина мыши, значение которой лежит в диапазоне от около 40,3 нМ до около 0,07 нМ, или менее 0,07 нМ.

Другие аспекты по настоящему описанию относятся к выделенной нуклеиновой кислоте, содержа-

щей нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к вектору, содержащему нуклеиновую кислоту по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к выделенной клетке-хозяину, содержащей вектор по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу продуцирования антитела против сортилина, включающего культивирование клетки-хозяина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения, в результате которого продуцируется антитело против сортилина. В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает выделение антитела против сортилина, продуцируемого клеткой-хозяином. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к выделенному антителу против сортилина, полученному способом по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к фармацевтической композиции, содержащей антитело против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения и фармацевтически приемлемый носитель.

Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу увеличения уровней програнулина в головном мозге индивида, нуждающегося в этом, включающему введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина при применении для увеличения уровней програнулина в головном мозге индивида, нуждающегося в этом. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина для производства лекарственного средства для увеличения уровней програнулина в головном мозге индивида, нуждающегося в этом. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу увеличения уровней програнулина в организме индивида, нуждающегося в этом, включающему введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина при применении для увеличения уровней програнулина в организме индивида, нуждающегося в этом. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина для производства лекарственного средства для увеличения уровней програнулина в организме индивида, нуждающегося в этом. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, уровни програнулина увеличиваются в головном мозге, крови и/или одном или более периферических органов индивида. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, уровни програнулина увеличиваются без уменьшения клеточных уровней сортилина.

Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу увеличения внеклеточных уровней програнулина из одной или более клеток, включающему приведение в контакт одной или более клеток с антителом против сортилина. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина при применении для увеличения внеклеточных уровней програнулина из одной или более клеток. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина для производства лекарственного средства для увеличения уровней програнулина из одной или более клеток. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, уровни програнулина увеличиваются без уменьшения клеточных уровней сортилина. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу уменьшения клеточных уровней сортилина в организме индивида, нуждающегося в этом, включающему введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина при применении для уменьшения клеточных уровней сортилина в организме индивида, нуждающегося в этом. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина для производства лекарственного средства для уменьшения клеточных уровней сортилина в организме индивида, нуждающегося в этом. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, уровни сортилина уменьшаются в головном мозге и/или одном или более периферических органов индивида. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу уменьшения клеточных уровней сортилина одной или более клеток, включающему приведение в контакт одной или более клеток с антителом против сортилина. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина при применении для уменьшения клеточных уровней сортилина одной или более клеток. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина для производства лекарственного средства для уменьшения клеточных уровней сортилина одной или более клеток.

Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу ингибирования одного или более взаимодействий между белком сортилином и одним или более белков, выбранных из группы, состоящей из програнулина, нейротенина, р75, сортилинового пропептида (Sort-pro), амилоидного белка-предшественника (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), PCSK9 и связанного с рецептором белка (RAP), причем способ включает: приведение в контакт белка сортилина с антителом против сортилина, которое связывается с эпитопом, содержащим SEQ

ID NO: 4. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина, которое связывается с эпитопом, содержащим SEQ ID NO: 4, при применении для ингибирования одного или более взаимодействий между белком сортилином и одним или более белков, выбранных из группы, состоящей из програнулина, нейротензина, р75, сортилинового пропептида (Sort-pro), амилоидного белка-предшественника (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), PCSK9 и связанного с рецептором белка (RAP). Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина, которое связывается с эпитопом, содержащим SEQ ID NO: 4, при производстве лекарственного средства для ингибирования одного или более взаимодействий между белком сортилином и одним или более белков, выбранных из группы, состоящей из програнулина, нейротензина, р75, сортилинового пропептида (Sort-pro), амилоидного белка-предшественника (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9 и связанного с рецептором белка (RAP).

В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, (a) антитело против сортилина обладает свойством, выбранным из группы, состоящей из: увеличения внеклеточных уровней програнулина, увеличения клеточных уровней програнулина, уменьшения клеточных уровней сортилина, ингибирования взаимодействия между сортилином с и програнулином, и любой их комбинации; (b) антитело против сортилина уменьшает уровни сортилина на клеточной поверхности, уменьшает внутриклеточные уровни сортилина, уменьшает общие уровни сортилина или любую их комбинации; (c) антитело против сортилина индуцирует деградацию сортилина, расщепление сортилина, интернализацию сортилина, понижающую регуляцию сортилина или любую их комбинацию; (d) антитело против сортилина уменьшает клеточные уровни сортилина и не ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином; (e) антитело против сортилина уменьшает клеточные уровни сортилина и ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином; (f) антитело против сортилина уменьшает клеточные уровни сортилина и увеличивает клеточные уровни програнулина; (g) антитело против сортилина увеличивает клеточные уровни програнулина и не ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином; (h) антитело против сортилина ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином и увеличивает клеточные уровни програнулина; (i) антитело против сортилина ингибирует взаимодействие между сортилином и програнулином и не уменьшает клеточные уровни сортилина; (j) антитело против сортилина увеличивает клеточные уровни програнулина и не уменьшает клеточные уровни сортилина; (k) антитело против сортилина дополнительно ингибирует взаимодействие между сортилином и про-фактором роста нервов (pro-NGF); (l) антитело против сортилина дополнительно ингибирует взаимодействие между сортилином и одним или более белков, выбранных из группы, состоящей из пронеуротрофина, нейротрофина, фактора роста нервов (NGF), нейротрофического профактора головного мозга (pro-BDNF), нейротрофического фактора головного мозга (BDNF), пронеуротрофина-3, нейротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, нейротрофина-4/5, нейротензина, нейротензина, р75, сортилиновой пропептидазы (Sort-pro), амилоидного белка-предшественника (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9 и связанного с рецептором белка (RAP); (m) антитело против сортилина дополнительно ингибирует взаимодействие между сортилином и одним или более белков, выбранных из группы, состоящей из пронеуротрофина, нейротрофина, фактора роста нервов (NGF), нейротрофического профактора головного мозга (pro-BDNF), нейротрофического фактора головного мозга (BDNF), пронеуротрофина-3, нейротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, нейротрофина-4/5, нейротензина, нейротензина, р75, сортилиновой пропептидазы (Sort-pro), амилоидного предшественника-белка (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9 и связанного с рецептором белка (RAP) путем: а) снижения эффективных уровней сортилина, доступного для взаимодействия с одним или более белков; б) индуцирования деградации сортилина; или обоих вариантов; (n) антитело против сортилина ингибирует клеточную секрецию PCSK9, ингибирует продукцию А-бета-пептида или обоих вариантов; (o) антитело против сортилина индуцирует одну или более активностей програнулина; (p) антитело против сортилина уменьшает эндосомальную интернализацию програнулина или его фрагмента; и/или (q) антитело против сортилина увеличивает эффективную концентрацию програнулина. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, (a) антитело против сортилина связывается исключительно с сортилином человека, сортилином мыши или обоими; (b) антитело против сортилина представляет собой антитело человека; (c) антитело против сортилина представляет собой гуманизированное антитело; (d) антитело против сортилина представляет собой биспецифическое антитело; (e) антитело против сортилина представляет собой биспецифическое антитело, распознающее первый антиген и второй антиген; (f) антитело против сортилина представляет собой биспецифическое антитело, распознающее первый антиген и второй антиген, причем первый антиген представляет собой белок сортилин, а второй антиген представляет собой антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер и, необязательно, при этом второй антиген, выбран из группы, состоящей из сортилина, рецептора трансферрина (TR), рецептора инсулина (HIR), рецептора инсулиноподобного фактора роста (IGFR), родственных белков 1 и 2 подобных рецептору липопротеинов низкой

плотности (LPR-1 и 2), рецептора дифтерийного токсина, CRM197, однодоменного антитела ламы, TMEM 30(A), белкового домена трансдукции, TAT, Syn-B, пенетратина, полиаргининового пептида, пептида ангиопеп, базигина, Glut1, CD98hc и ANG1005; (g) антитело против сортилина представляет собой поливалентное антитело; (h) антитело против сортилина представляет собой конъюгированное антитело; (i) антитело против сортилина представляет собой химерное антитело; (j) антитело против сортилина представляет собой антитело; (k) антитело против сортилина представляет собой фрагмент антитела, который связывается с эпитопом, содержащим аминокислотные остатки сортилина человека, или белка сортилина млекопитающего; или (l) антитело против сортилина представляет собой фрагмент антитела, который связывается с эпитопом, содержащим аминокислотные остатки на сортилине человека или белке сортилине человека и, необязательно, при этом фрагмент представляет собой фрагмент Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv или scFv.

В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина связывает прерывистый сортилиновый эпитоп. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, прерывистый сортилиновый эпитоп содержит два или более пептидов, три или более пептидов, четыре или более пептидов, пять или более пептидов, шесть или более пептидов, семь или более пептидов, восемь или более пептидов, девять или более пептидов, или 10 или более пептидов. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, каждый из пептидов содержит пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более 14 или более, 15 или более, 16 или более, 17 или более, 18 или более, 19 или более, 20 или более, 21 или более, 22 или более, 23 или более, 24 или более, 25 или более, 26 или более, 27 или более, 28 или более, 29 или более, или 30 или более аминокислотных остатков аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1; или пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более 14 или более, 15 или более, 16 или более, 17 или более, 18 или более, 19 или более, 20 или более, 21 или более, 22 или более, 23 или более, 24 или более, 25 или более, 26 или более, 27 или более, 28 или более, 29 или более, или 30 или более аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина связывается с конформационным эпитопом сортилина. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина связывается с одной или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков, выбранных из группы, состоящей из: i) аминокислотных остатков 740-749 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 740-749 из SEQ ID NO: 1; ii) аминокислотных остатков 623-632 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 623-632 из SEQ ID NO: 1; iii) аминокислотных остатков 429-443 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 429-443 из SEQ ID NO: 1; iv) аминокислотных остатков 367-391 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 367-391 из SEQ ID NO: 1; v) аминокислотных остатков 314-338 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 314-338 из SEQ ID NO: 1; vi) аминокислотных остатков 297-317 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 297-317 из SEQ ID NO: 1; vii) аминокислотных остатков 237-260 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 237-260 из SEQ ID NO: 1; viii) аминокислотных остатков 237-260 и 297-317 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 237-260 и 297-317 из SEQ ID NO: 1; ix) аминокислотных остатков 237-247 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 237-247 из SEQ ID NO: 1; x) аминокислотных остатков 237-247 и 314-338 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 237-247 и 314-338 из SEQ ID NO: 1; xi) аминокислотных остатков 233-243 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 233-243 из SEQ ID NO: 1; xii) аминокислотных остатков 212-221 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 212-221 из SEQ ID NO: 1; xiii) аминокислотных остатков 207-227 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 207-227 из SEQ ID NO: 1; xiv) аминокислотных остатков 207-227 и 237-260 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 207-227 и 237-260 из SEQ ID NO: 1; xv) аминокислотных остатков 207-231 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке

сортитине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 207-231 из SEQ ID NO: 1; xvi) аминокислотных остатков 175-181 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортитине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 175-181 из SEQ ID NO: 1; и xvii) аминокислотные остатки 131-138 из SEQ ID NO: 1 или аминокислотных остатков на белке сортитине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 131-138 из SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортитина связывается с одним или более аминокислотными остатками, выбранными из группы, состоящей из H131, V132, P133, L134, V135, M136, M137, T138, T210, T218, Y222, S223, S227, S242, K243, K248, K254, S305, R311, S316, R325, S379, R382, Y386 и S595 из SEQ ID NO: 1, или одним или более аминокислотными остатками на белке сортитине млекопитающего, соответствующими аминокислотным остаткам H131, V132, P133, L134, V135, I136, M137, T138, T210, T218, Y222, S223, S227, S242, K243, K248, K254, S305, R311, S316, R325, S379, R382, Y386 и S595 из SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортитина содержит по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR антители, выбранного из группы, состоящей из: S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-12, S-14, S-15, S-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-24, S-25, S-26, S-28, S-29, S-30, S-32, S-34, S-39, S-40, S-42, S-43, S-44, S-45, S-48, S-49, S-50, S-51, S-55, S-57, S-58, S-59, S-60, S-61, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-69, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-78, S-81, S-82, S-83, S-84 и S-85. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортитина содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6-16, 20-22 и 24-25; (b) HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-40; (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-50, 52, 54-56, 58-62, 64-66, 68-70, 72, 74, 79-80, 82-85, 88-91, 95, 97-101, 103-107, 109, 111-116, 118 и 121-125; (d) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145 и 147-149; (e) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175 и 177-178; или (f) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219, 222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249 и 252-256. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортитина содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем вариабельный домен легкой цепи содержит: (a) HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6-16, 20-22 и 24-25, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6-16, 20-22 и 24-25; (b) HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-40, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-40; и (c) HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-50, 52, 54-56, 58-62, 64-66, 68-70, 72, 74, 79-80, 82-85, 88-91, 95, 97-101, 103-107, 109, 111-116, 118 и 121-125, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-50, 52, 54-56, 58-62, 64-66, 68-70, 72, 74, 79-80, 82-85, 88-91, 95, 97-101, 103-107, 109, 111-116, 118 и 121-125; и при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145 и 147-149, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145 и 147-149; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175 и 177-178, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175 и 177-178; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219, 222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249 и 252-256, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219, 222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249 и 252-256.

В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортитина содержит вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, причем: (a) вариабельный домен легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из RASQSISSYLN (SEQ ID

NO: 7); HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность AASSLQS (SEQ ID NO: 27); и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из QQSDVSPIT (SEQ ID NO: 42); и/или вариативный домен тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из YTFX₁X₂YX₃MX₄ (SEQ ID NO: 480), где X₁ представляет собой T, G, V, P, L, F, A или R, X₂ представляет собой G, A или S, X₃ представляет собой Y, M или L, а X₄ представляет собой H или W; HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из X₁X₂X₃PX₄X₅GX₆TX₇YAQKFQG (SEQ ID NO: 481), где X₁ представляет собой W, I или G, X₂ представляет собой I, V или T, X₃ представляет собой N, G или L, X₄ представляет собой N, S, V или M, X₅ представляет собой S, G, W или Q, X₆ представляет собой G, F, A, Y, S, N или R, а X₇ представляет собой N, R, S или M; и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO: 180); (b) вариативный домен легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из RASQSX₁X₂SNLA (SEQ ID NO: 508), где X₁ представляет собой V или I, а X₂ представляет собой S или G; HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность из GASTRAT (SEQ ID NO: 29); и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из QQARLGPWT (SEQ ID NO: 55); и/или вариативный домен тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из YTX₁X₂X₃X₄X₅X₆S (SEQ ID NO: 509), где X₁ представляет собой F или L, X₂ представляет собой T или A, X₃ представляет собой S или K, X₄ представляет собой Y, T, R, L, T, G, Q или H, X₅ представляет собой Y, T или L, а X₆ представляет собой M или I; HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из X₁INPX₂GGX₃X₄SYAX₅X₆FX₇G (SEQ ID NO: 510), где X₁ представляет собой I или V, X₂ представляет собой S, W, Y, V, F, L или I, X₃ представляет собой S или T, X₄ представляет собой T или A, X₅ представляет собой Q или R, X₆ представляет собой K или R, а X₇ представляет собой Q или R; и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из X₁RDPX₂GX₃X₄X₅X₆X₇PX₈X₉RX₁₀X₁₁X₁₂GX₁₃DV (SEQ ID NO: 511), где X₁ представляет собой A, V или T, X₂ представляет собой S, F или G, X₃ представляет собой I или A, X₄ представляет собой A или G, X₅ представляет собой A, L или V, X₆ представляет собой A, L, или P, X₇ представляет собой G, F или Y, X₈ представляет собой A, G или F, X₉ представляет собой S, G или A, X₁₀ представляет собой Y, G, P, H или S, X₁₁ представляет собой Y или N, X₁₂ представляет собой Y, L, Q или R, а X₁₃ представляет собой M или L; (c) вариативный домен легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из RASQSISSWLA (SEQ ID NO: 8); HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность из KASSLES (SEQ ID NO: 28); и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из QQADGHIT (SEQ ID NO: 62); и/или вариативный домен тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из X₁TFX₂X₃YAX₄X₅ (SEQ ID NO: 565), где X₁ представляет собой G или Y, X₂ представляет собой S, R, G, или T, X₃ представляет собой S, G или N, X₄ представляет собой I или M, а X₅ представляет собой S или A; HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из GIX₁PX₂X₃GX₄AX₅YAQKFQG (SEQ ID NO: 566), где X₁ представляет собой I или V, X₂ представляет собой I, R, G, A, S, T, или Q, X₃ представляет собой F или G, X₄ представляет собой T, R, или W, а X₅ представляет собой S, N, Q, или W; и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO: 197); (d) вариативный домен легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из RSSQX₁LLX₂SNGYNYLD (SEQ ID NO: 580), где X₁ представляет собой S или G, а X₂ представляет собой H или R; HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность из LGSNRXS (SEQ ID NO: 581), где X представляет собой A или V; и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из MQQETPLT (SEQ ID NO: 100); и/или вариативный домен тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из YSISSX₁X₂YWG (SEQ ID NO: 582), где X₁ представляет собой G или V, а X₂ представляет собой Y или R; HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из X₁IYX₂SGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO: 583), где X₁ представляет собой T, S или A, а X₂ представляет собой H или P; и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из ARQGSIKQGYGYGMDV (SEQ ID NO: 233); или (e) вариативный домен легкой цепи содержит HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность из RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 14); HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность из GASSRAT (SEQ ID NO: 26); и HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность из QQSHVSPWT (SEQ ID NO: 122); и/или вариативный домен тяжелой цепи содержит HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность из X₁SIX₂SX₃X₄YYWG (SEQ ID NO: 589), где X₁ представляет собой G или Y, X₂ представляет собой S, V, Y, K или P, X₃ представляет собой S или R, а X₄ представляет собой D или E; HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность из X₁IYX₂X₃GSTX₄YNPSLKS (SEQ ID NO: 590), где X₁ представляет собой S, G, Q или L, X₂ представляет собой Y, W или R, X₃ представляет собой S, R, K или A, а X₄ представляет собой Y или V; и HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность из ARGVGSQY-SYGYRYFDY (SEQ ID NO: 253). В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, (a) антитело против сортилина конкурирует с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-6, S-8, S-49, S-60, S-63, S-72, S-83, и их любой комбинации для связывания с сортилином; (b) антитело против сортилина конкурирует с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-5, S-45, S-64, S-65, и их любой комбинации за связывание с сортилином; (c) антитело против сортилина конкурирует с

одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-5, S-30, S-60, и их любой комбинации за связывание с сортилином; (d) антитело против сортилина конкурирует с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-2, S-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-28, S-29, S-82, и их любой комбинации для связывания с сортилином; (e) антитело против сортилина конкурирует с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-1, S-3, S-4, S-6, S-7, S-9, S-10, S-14, S-15, S-26, S-32, S-48, S-51, S-55, S-57, S-58, S-59, S-61, S-69, S-71, S-73, S-74, S-75, S-85, и их любой комбинации для связывания с сортилином; (f) антитело против сортилина конкурирует с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-5, S-12, S-24, S-25, S-30, S-34, S-39, S-40, S-42, S-43, S-44, S-45, S-60, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-72, S-76, S-78, S-81, S-83, S-84, и их любой комбинации для связывания с сортилином; (g) антитело против сортилина конкурирует с одним или более антителами, выбранными из группы, состоящей из S-8, S-49, S-50, и их любой комбинации для связывания с сортилином; или (h) антитело против сортилина, которое по существу связывает такой же сортилиновый эпиглоп, что и антитело, выбранное из группы, состоящей из: S-1, S-2, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-12, S-14, S-15, S-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-24, S-25, S-26, S-28, S-29, S-30, S-32, S-34, S-39, S-40, S-42, S-43, S-44, S-45, S-48, S-49, S-50, S-51, S-55, S-57, S-58, S-59, S-60, S-61, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-69, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-78, S-81, S-82, S-83, S-84 и S-85. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина содержит вариабельный домен легкой цепи и/или вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 317-334, 337-338, 341-345, 348-357, 360-365, 368-372, 375-376, 379-380, 389-392, 395-402, 407-414, 421-422, 425-433, 436-444, 447-448, 451-461, 464-465 и 470-479. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, (a) антитело против сортилина представляет собой класс IgG, класс IgM или класс IgA; или (b) антитело против сортилина имеет изотип IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4; (c) антитело против сортилина имеет изотип IgG1 человека или мыши и содержит одну или более аминокислотных замен в Fc-участке в положении остатков, выбранных из группы, состоящей из: N297A, N297Q, D265A, L234A, L235A, C226S, C229S, P238S, E233P, L234V, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, L234F, L235E, P331S, T394D, A330L, M252Y, S254T, T256E, и их любой комбинации, причем нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU или Kabat; (d) антитело против сортилина имеет изотип IgG2 и содержит одну или более аминокислотных замен в Fc-участке в положении остатков, выбранных из группы, состоящей из: P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T, T256E, и их любой комбинации, причем нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU или Kabat; или (e) антитело против сортилина имеет изотип IgG4 и содержит одну или более аминокислотных замен в Fc-участке в положении остатков, выбранных из группы, состоящей из: E233P, F234V, L234A/F234A, L235A, G237A, E318A, S228P, L236E, S241P, L248E, T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, N297Q, и их любой комбинации, причем нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU или Kabat. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, Fc-участок одной или более из (c), (d) и (e) дополнительно содержит: (a) одну или более дополнительных аминокислотных замен в положении, выбранном из группы, состоящей из A330L, L234F, L235E, P331S и любой их комбинации, причем нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU или Kabat; (b) Fc-участок дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен в положении, выбранном из группы, состоящей из M252Y, S254T, T256E и любой их комбинации, причем нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU или Kabat; или (c) аминокислотную замену S228P в соответствии с нумерацией EU или Kabat. В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, (a) антитело против сортилина обладает константой диссоциации (K_D) для сортилина человека, сортилина мыши или их обоих, значение которой лежит в диапазоне от около 100 нМ до около 0,005 нМ, или менее 0,005 нМ; (b) антитело против сортилина обладает константой диссоциации (K_D) для сортилина человека, сортилина мыши или их обоих, значение которой лежит в диапазоне от около 70,4 нМ до около 0,005 нМ, или менее 0,005 нМ; или (c) антитело против сортилина обладает константой диссоциации (K_D) для сортилина человека, сортилина мыши или их обоих, значение которой лежит в диапазоне от около 40,3 нМ до около 0,07 нМ, или менее 0,07 нМ. В определенных вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина представляет собой антитело против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения.

Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу предупреждения, снижения риска или лечения индивида, имеющего заболевание, нарушение или повреждение, выбранное из группы, состоящей из лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических заболеваний сосудов, нежелательных симптомов естественного старения, деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной

гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, дегенеративного заболевания межпозвонковых дисков, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего супрануклеарного паралича, кортикальной базальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, связанными с гранулематозом нарушениями, саркоидозом, болезнью старения, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, воспалительных нарушений, артрита, рассеянного склероза, нарушения метаболизма, ожирения, резистентности к инсулину, диабета 2 типа, повреждения тканей или сосудов, ранения или одного или более нежелательных симптомов естественного старения, включающих введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения при применении для предупреждения, снижения риска или лечения индивида, имеющего заболевание, нарушение или повреждение, выбранное из группы, состоящей из лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических заболеваний сосудов, нежелательных симптомов естественного старения, деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, дегенеративного заболевания межпозвонковых дисков, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего супрануклеарного паралича, кортикальной базальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, связанными с гранулематозом нарушениями, саркоидозом, болезнью старения, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, воспалительных нарушений, артрита, рассеянного склероза, нарушения метаболизма, ожирения, резистентности к инсулину, диабета 2 типа, повреждения тканей или сосудов, ранения или одного или более нежелательных симптомов естественного старения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения для производства лекарственного средства для предупреждения, снижения риска или лечения индивида, имеющего заболевание, нарушение или повреждение, выбранное из группы, состоящей из лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических заболеваний сосудов, нежелательных симптомов естественного старения, деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, дегенеративного заболевания межпозвонковых дисков, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего супрануклеарного паралича, кортикальной базальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, связанными с гранулематозом нарушениями, саркоидозом, болезнью старения, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, воспалительных нарушений, артрита, рассеянного склероза, нарушения метаболизма, ожирения, резистентности к инсулину, диабета 2 типа, повреждения тканей или сосудов, ранения или одного или более нежелательных симптомов естественного старения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу предотвращения, снижения риска или лечения индивида, имеющего заболевание, нарушение или поражение, выбранные из группы, состоящей из лобно-височной деменции, прогрессирующего супрануклеарного паралича, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, бокового амиотрофического склероза, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, деменции, инсульта, болезни Паркинсона, острого рассеянного энцефаломиелита, дегенерации сетчатки, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, рассеянного склероза, септического шока, бактериальной инфекции, артрита и остеоартрита, включающему введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения, применяемого для предотвращения, снижения риска или лечения индивида, имеющего заболевание,

нарушение или поражение, выбранные из группы, состоящей из лобно-височной деменции, прогрессирующего супрануклеарного паралича, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, бокового амиотрофического склероза, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, деменции, инсульта, болезни Паркинсона, острого рассеянного энцефаломиелита, дегенерации сетчатки, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, рассеянного склероза, септического шока, бактериальной инфекции, артрита и остеоартрита. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения в производстве лекарственного средства для предотвращения, снижения риска или лечения индивида, имеющего заболевание, нарушение или поражение, выбранные из группы, состоящей из лобно-височной деменции, прогрессирующего супрануклеарного паралича, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, бокового амиотрофического склероза, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, деменции, инсульта, болезни Паркинсона, острого рассеянного энцефаломиелита, дегенерации сетчатки, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, рассеянного склероза, септического шока, бактериальной инфекции, артрита и остеоартрита.

Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу ингибирования одного или более из нейровоспаления, аксонопатии, характеризующейся коротким аксональным отростком и аномальным разветвлением, микроглиальной активации и воспалительного ответа, включающего введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения при применении для ингибирования одного или более из нейровоспаления, аксонопатии, характеризующейся коротким аксональным отростком и аномальным разветвлением, микроглиальной активации и воспалительного ответа. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения в производстве лекарственного средства для ингибирования одного или более из нейровоспаления, аксонопатии, характеризующейся коротким аксональным отростком и аномальным разветвлением, микроглиальной активации и воспалительного ответа. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу стимулирования одного или более из заживления ран, аутофагии и выведения агрегатов белков, включающему введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения при применении для стимулирования одного или более из заживления ран, аутофагии и выведения агрегатов белков. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения для производства лекарственного средства для стимулирования одного или более из заживления ран, аутофагии и выведения агрегатов белков. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу предотвращения, снижения риска или лечения индивида, болеющего артритом, включающему введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения при применении для предотвращения, снижения риска или лечения индивида, болеющего артритом. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения в производстве лекарственного средства для предотвращения, снижения риска или лечения индивида, болеющего артритом. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к способу уменьшения экспрессии одного или более провоспалительных медиаторов, включающему введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к антителу против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения при применении для уменьшения экспрессии одного или более провоспалительных медиаторов. Другие аспекты по настоящему описанию относятся к применению антитела против сортилина по любому из предшествующих вариантов реализации изобретения для производства лекарственного средства для уменьшения экспрессии одного или более провоспалительных медиаторов. В некоторых вариантах реализации изобретения один или более провоспалительных медиаторов, выбирают из группы, состоящей из IL-6, IL12p70, IL12p40, IL-1 β , TNF- α , CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5.

В некоторых вариантах реализации изобретения, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации изобретения, антитело против сортилина включает два или более антител против сортилина.

Краткое описание чертежей

Файл патента или заявки содержит по меньшей мере одно графическое изображение, выполненное в цвете. Копии этого патента или публикации заявки на патент с цветным графическим изображением(ями) будут предоставлены патентным ведомством по запросу и после уплаты необходимой пошлины.

На фиг. 1 изображено несколько видов белка сортилина человека, показаны сайты связывания сортилина антител против сортилина S-1, S-65, S-49, S-78, S-44 и S-8. Скелет сортилина отображен в виде светло-серого представления. Линейные участки связывания, выделенные цветами, идентифицированы для антител S-1 (зеленый), S-65 (красный), S-49 (синий), S-78 (желтый), S-44 (розовый) и S-8 (фиолетовый). В пределах участков гибких петель сортилина обнаружены сайты связывания.

На фиг. 2A-2C показано определение параметров взаимодействия между сортилином и програнулином с использованием поверхностного плазмонного резонанса (SPR) и ELISA. На фиг. 2A показаны данные кинетического анализа связывания програнулина (PGRN) с His-захваченным сортилином 1 (SORT1) с использованием анализа Biacore SPR. На фиг. 2B показано связывание биотинилированного PGRN человека с иммобилизованным SORT1 человека на планшете для ELISA. На фиг. 2C показано связывание биотинилированного PGRN мыши с иммобилизованным SORT1 мыши на планшете для ELISA.

На фиг. 3A показано авидное связывание антитела с сортилином человека (b-H Sort) на сенсорном чипе и конкуренция с антителами против сортилина (IgG). На фиг. 3B показано определение параметров взаимодействий между сортилином (SORT) и програнулином (PGRN) с использованием анализа Forte Bio и конкуренция с антителами против сортилина (IgG). Левый столбец: биотинилированный програнулиновый пептид иммобилизован на сенсорном чипе и в раствор добавлен SORT, с последующим добавлением IgG. Центральный столбец: биотинилированный рекомбинантный SORT человека иммобилизован на сенсорном чипе и в раствор добавлен рекомбинантный PGRN, с последующим добавлением IgG. Правый столбец: биотинилированный рекомбинантный PGRN иммобилизован на сенсорном чипе и в раствор добавлен SORT человека, с последующим добавлением IgG. (SORT=сортилин, PGRN=програнулин, b=биотинилированный, H=человека, моно=мономерный).

На фиг. 4A показано примеры различных классов антител против сортилина, которые блокируют связывание програнулина в различных положениях ForteBio (описанных на фиг. 3B). На левом столбце изображено конкурентное связывание с использованием SORT человека, который связывает пептид PGRN, иммобилизованный на сенсорном чипе. На среднем столбце изображено конкурентное связывание с использованием нативного белка PGRN, который связывает SORT человека, иммобилизованный на сенсорном чипе. На правом столбце изображено конкурентное связывание с использованием нативного белка SORT, который связывает нативный белок PGRN, иммобилизованный на чипе Sensor-Chip. На фиг. 4B показано связывание антител против сортилина с His-захваченным сортилином (SORT1) с использованием Biacore SPR при pH 6,4 и pH 7,4.

На фиг. 5A-5D показано определение параметров взаимодействия на клетках между сортилином и програнулином. На фиг. 5A показано график FACS, отображающий уровни связывания PGRN-Bio человека с клетками HEK293T, экспрессирующими SORT человека. На фиг. 5B показано график FACS, отображающий уровни связывания PGRN-Bio человека с контрольными клетками. На фиг. 5C показано среднюю интенсивность флуоресценции (MFI), отложенную на графике по отношению к концентрации PGRN человека, связывающегося с клетками HEK293T, экспрессирующими SORT человека (круги) или контрольный антител (квадраты). На фиг. 5D показано значение MFI, отложенное на графике по отношению к концентрации PGRN мыши, связывающегося с клетками HEK293T, экспрессирующими SORT мыши (круги) или контрольными клетками (квадраты).

На фиг. 6A-6E показано дозозависимое ингибирование связывания антителами против сортилина биотинилированного програнулина с клетками, которые экспрессируют сортилин. На фиг. 6A и фиг. 6B изображено ингибирование связывания антителами програнулина человека, связывающегося с сортилином человека. На фиг. 6C и фиг. 6D изображено ингибирование антителами связывания програнулина мыши с сортилином мыши. На фиг. 6E изображено ингибирование связывания антителами против сортилина с концентрацией 67 нМ биотинилированного програнулина человека с клетками, которые экспрессируют сортилин человека.

На фиг. 7 изображено исследование синергических влияний комбинаций антитела на связывание биотинилированного програнулина с сортилином, экспрессирующимся на клетках HEK293T. S-49, S-64 (бин 4) и S-16 (бин 1) комбинировали либо с изотипным контрольным антителом, либо с друг с другом.

На фиг. 8A показано результаты анализа с визуализацией для времязависимого связывания и эндоцитоза флуоресцентно меченного програнулина (PGRN) и его блокирование 10 мкМ сортилинового пептида, который конкурирует с PGRN. Клетки, трансфицированные либо сортилином человека (hSort), либо lacZ, инкубировали с програнулином (PGRN) в течение 4, 15, 30 или 60 мин и после этого проводили визуализацию. Данный анализ предназначен для исследования способности антител против сортилина предотвращать связывание и эндоцитоз програнулина (PGRN) при участии сортилина (Sort). На фиг. 8B показано результаты для графика FACS, изображающие времязависимое связывание и эндоцитоз PGRN-DyLight650 клетками, которые экспрессируют сортилин человека. Данный анализ предназначен для ис-

следования способности антител против сортилина предотвращать связывание и эндоцитоз флуоресцентно меченого програнулина (PGRN) при участии сортилина человека. На фиг. 8C показано результаты для графика FACS, изображающие времязависимое связывание и эндоцитоз PGRN-DyLight650 клетками, которые экспрессируют сортилин мыши. Данный анализ предназначен для исследования способности антител против сортилина предотвращать связывание и эндоцитоз флуоресцентно меченого програнулина (PGRN) при участии сортилина мыши. PGRN-DyLight650 человека добавляли к Sort человека (фиг. 8B) или Sort мыши (фиг. 8C), или контрольным клеткам HEK293T, а количество связанного и поглощенного эндоцитозом PGRN определяли анализом FACS. На фиг. 8D показано результаты анализа FACS, демонстрирующие способность ингибирующего PGRN человека пропептида Sort предотвращать связывание и эндоцитоз флуоресцентно меченого PGRN при участии сортилина человека. На фиг. 8E показано результаты анализа FACS, демонстрирующие способность ингибирующего PGRN мыши пропептида Sort предотвращать связывание и эндоцитоз флуоресцентно меченого PGRN при участии сортилина мыши.

На фиг. 9A-9D показано результаты анализов, демонстрирующие способность антител против сортилина увеличивать эндогенные секретированные уровни програнулина в среде астроцитной линии клеток человека U-251, которые экспрессируют эндогенный сортилин человека. На фиг. 9A отображено результаты для клеток U-251, инкубированных с 50 нМ антител против сортилина в течение 72 ч. На фиг. 9B отражено результаты для клеток U-251, инкубированных с 5 нМ антител против сортилина в течение 72 ч. На фиг. 9C отображено результаты для клеток U-251, инкубированных с 50 нМ антител против сортилина в течение 72 ч. На фиг. 9D отражено результаты для клеток U-251, инкубированных с 5 нМ антител против сортилина в течение 72 ч. Уровни програнулина в среде количественно определяли анализом ELISA. Показаны средние значения двух независимых экспериментов. Статистические расчеты выполняли с использованием анализа ANOVA, а звездочками показаны антитела, которые статистически значимо повышали уровни програнулина.

На фиг. 10A-10F показано влияние антител против сортилина на уровни сортилина на клеточной поверхности на человеческих клетках U-251 или мышинных клетках N2A и соответствующую способность увеличивать секретлируемые уровни эндогенного програнулина (PGRN) дозозависимым образом. Клетки инкубировали в течение 72 ч с 50 нМ блокирующего IgG, собирали и окрашивали их антителом против сортилина, которое связывает другой участок на сортилине, чем исследуемые антитела. На фиг. 10A показано экспрессию на клеточной поверхности сортилина на клетках U-251 в виде процента (%) от контрольных уровней, которые были предварительно обработаны исследуемыми антителами, перечисленными на оси X. Серые прямоугольники отмечают антитела, которые показали статистически значимое уменьшение для сортилина (ANOVA, $p < 0,05$), тогда как белые прямоугольники отмечают антитела, которые не показали снижения для сортилина. Черные прямоугольники отмечают контрольный IgG. На фиг. 10B показано экспрессию на клеточной поверхности сортилина на клетках N2A в виде процента (%) от контрольных уровней, которые были предварительно обработаны исследуемыми антителами, перечисленными на оси X. Серые прямоугольники отмечают антитела, которые показали статистически значимое уменьшение для сортилина (ANOVA, $p < 0,05$), тогда как белые прямоугольники отмечают антитела, которые не показали снижения для сортилина. Черные прямоугольники отмечают контрольный IgG. На фиг. 10C и фиг. 10D изображено уровни сортилина на клеточной поверхности в клетках U-251, которые инкубировали с другой концентрацией антител против сортилина в течение 72 ч. Антитела против сортилина индуцируют дозозависимое уменьшение в экспрессии сортилина на клеточной поверхности. Уменьшение уровней сортилина отображено уменьшенной интенсивностью флуоресценции (MFI) для антитела S-20, связывающегося с сортилином. На фиг. 10E изображено количественное определение на основе ELISA соответствующих уровней PGRN в среде клеток U-251 на фиг. 10B, которые инкубировали с перечисленными антителами против сортилина в течение 72 ч. Антитела против сортилина, которые уменьшают уровни сортилина на клеточной поверхности, также вызывают дозозависимое увеличение уровней внеклеточного PGRN. На фиг. 10F показано корреляцию между снижением уровней сортилина на клеточной поверхности, индуцированную антителами против сортилина, и увеличением внеклеточных уровней програнулина (PGRN).

На фиг. 11A-11F показано результаты, демонстрирующие, что вливание антитела против сортилина повышает эндогенные уровни програнулина головного мозга в несколько раз на модели болезни Альцгеймера на мышах Tg2576. На фиг. 11A изображено уровни програнулина в различных участках головного мозга, противоположных сайту ICV-вливания. На фиг. 11B изображено уровни програнулина в различных участках головного мозга, расположенных на стороне сайта ICV-вливания. Различные участки головного мозга представляют собой гиппокамп (Hip), лобную зону коры (F Ctx) и затылочную зону коры (R Ctx). Мышам Tg2576 возрастом 14 месяцев проводили ICV-вливания буферного раствора, IgG козла или поликлонального антитела козла против сортилина ($n=3$ /группу). На фиг. 11C изображено уровни антитела против сортилина в трех различных участках головного мозга. На фиг. 11D изображено сильную положительную корреляцию между уровнями антитела против сортилина и уровнями эндогенного програнулина (PGRN) ($r^2=0,92$). Более высокие уровни антитела против сортилина ведут к повышению PGRN головного мозга дозозависимым образом. На фиг. 11F изображено уровни пептида Abeta42 во

фракции растворимых белков после ICV-вливания антитела против сортилина.

На фиг. 12A изображено данные анализа поверхностного плазмонного резонанса (ППР) *biacore* для отслеживания конкуренции между pro-NGF и антителами против сортилина за связывание с сортилином. Анализ показывает, что сортилин человека, захваченный с чипом *Biacore*, с последующим связыванием pro-NGF с сортилином, с последующим связыванием антитела против сортилина с сортилином. На фиг. 12B изображено неблокирующий контроль. Если pro-NGF и данное антитело против сортилина связывает такой же участок на сортилине, то связывание pro-NGF будет ингибировать последующее связывание антитела против сортилина. Таким образом, если данное антитело связывает сортилин в одинаковой степени в присутствии (штриховые линии) или отсутствии (сплошные линии) pro-NGF, как изображено на фиг. 12B, то такое антитело не блокирует связывание pro-NGF с сортилином. На фиг. 12C изображено связывание антител против сортилина с сортилином в присутствии (штриховые линии) или отсутствии (сплошные линии) pro-NGF. Показанные антитела являются частично блокированными присутствием связанного с сортилином pro-NGF. Антитела S-1 и S-65 сильно поддаются блокированию. Сплошные линии соответствуют связыванию антител с сортилином в отсутствие pro-NGF. Штриховые линии соответствуют связыванию pro-NGF в присутствии pro-NGF (максимальная конкуренция).

На фиг. 13A-13G изображено уровни экспрессии сортилина на клеточной поверхности после 72 ч инкубации с антителами против сортилина при концентрациях 20 нМ, 5 нМ или 1, 25 нМ. На фиг. 13A, фиг. 13B, фиг. 13C и фиг. 13D изображено экспрессию сортилина на клеточной поверхности на клетках U-251 человека. На фиг. 13E, фиг. 13F и фиг. 13G изображено экспрессию сортилина на клеточной поверхности на клетках N2A мыши. Результаты указывают на то что аффинно зрелые антитела индуцируют увеличенное снижение уровней сортилина на клеточной поверхности, особенно когда применяется самая низкая концентрация 1,25 нМ.

На фиг. 14 изображено ингибирование связывания програнулина (в процентной величине блокирования PGRN) с клетками HEK293T, которые экспрессируют сортилин, 150 нМ аффинно зрелых антител против сортилина, полученных из антител S-15. Аффинно зрелое антитело S-15-6 показало улучшенное блокирование PGRN.

На фиг. 15A и фиг. 15B изображено профили масс-спектропии антитела S-2-11, связывающегося с сортилином в отсутствие (фиг. 15A) или присутствии (фиг. 15B) пептидов, полученных в результате расщепления сортилина. Пептиды не конкурируют со связыванием антител с сортилином. Сходное отсутствие конкуренции пептидов наблюдали с другими антителами против сортилина.

На фиг. 16A представляет собой схематическое изображение охвата пептидов после ферментативного протеолиза сортилина. Пептидами, полученными путем протеолиза, охватывалось 94, 78% внеклеточного домена (ECD) сортилина (SEQ ID NO: 714). На фиг. 16B показано пониженное связывание антитела S-30 с конкретными мутантами сортилина, в которых аминокислоты последовательности человека заменены аминокислотами последовательности мыши. Результаты указывают, что для связывания S-30 требуются аминокислоты HVPLVIMT131 или их поднабор. На фиг. 16C показано пониженное связывание антитела S-60 с конкретными мутантами сортилина, в которых аминокислоты последовательности человека заменены аминокислотами последовательности мыши. Результаты показали, что для связывания S-60 требуется аминокислота S595.

На фиг. 17A-17E изображено графики поверхностного плазмонного резонанса. На фиг. 17A показано уровни связывания програнулина (PGRN) с сортилином в присутствии или отсутствии нейротензина (NTS). На фиг. 17B показано уровни связывания антитела S-15 против сортилина с сортилином в присутствии или отсутствии NTS. На фиг. 17C показано уровни связывания антитела S-22 против сортилина с сортилином в присутствии или отсутствии NTS. На фиг. 17D показано уровни связывания антитела S-49 против сортилина с сортилином в присутствии или отсутствии NTS. На фиг. 17E показано уровни связывания антитела S-60 против сортилина с сортилином в присутствии или отсутствии NTS. NTS не влияет на связывание антител с сортилином, показывая, что антитела против сортилина не связываются с сайтом связывания NTS.

На фиг. 18A изображено снижение уровней белка сортилина в первичных макрофагах человека под действием как полноразмерных антител (IgG), так и антительных Fab антител против сортилина. На фиг. 18B изображено снижение уровней белка сортилина в первичных дендритных клетках человека под действием как полноразмерных антител (IgG). На гели наносили 15 мкг белка, проводили блоттинг и окрашивание антителами против сортилина и бета-актина.

На фиг. 19A и 19B изображено результаты измерений периода полувыведения антител против сортилина *in vivo* после внутрибрюшинной (ВБ) инъекции 40 мг/кг на день 0. На фиг. 19A изображено инъекцию человеческих N297A антител-IgG1 против сортилина, n=4-5 животных/группу. На фиг. 19B изображено инъекции мышинового N297A антитела-IgG1 против сортилина. Данные подбирали с использованием однофазной убывающей функции (Graph Pad Prism). Антитела против сортилина имели более короткий период полувыведения, чем контрольный IgG.

На фиг. 20A-20D изображено результаты измерений уровней програнулинового белка (PGRN) мыши в образцах плазмы мышей в различные моменты времени после инъекции 4 0 мг/кг антител против

сортилина. На фиг. 20А и фиг. 20В изображено результаты с мышинными N297А антителами-IgG1 против сортилина. На фиг. 20С и фиг. 20D изображено результаты с человеческим N297А антителом-IgG1 против сортилина. На фиг. 20В и фиг. 20D обобщен статистический анализ с использованием одностороннего анализа Anova с ретроспективным тестом Тьюки. Звездочки указывают уровень значимости по сравнению с ms или hu IgG1-изотипной контрольной группой: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$. Антитела против сортилина индуцируют в плазме увеличение уровней белка PGRN с длительностью эффекта, которая коррелирует с периодом полувыведения антител.

На фиг. 21А-21F изображено результаты измерений уровней белка сортилина с использованием анализа вестерн-блота лизатов лейкоцитов, взятых у мышей. В качестве контроля нагрузки и для нормализации использовали анти-бета-актин. На фиг. 21А и фиг. 21В показаны уровни белка на день 5. На фиг. 21С и фиг. 21D показаны уровни белка на день 12. Антитела против сортилина S-20, S-15-6 и S-2-11 индуцируют статистически значимое снижение уровней белка сортилина на день 5 (односторонний анализ Anova с ретроспективным тестом Тьюки. Звездочки указывают уровни значимости: ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). Антитело S-15-6 индуцировало сниженные уровни белка сортилина на день 12 у 2 из 3 мышей. На фиг. 21Е и 21F показаны уровни белка в лейкоцитах после длительного шестинедельного курса еженедельных ВВ инъекций мышам с дозами антитела S15-6 против сортилина 20, 40 или 80 мг/кг. Все три дозы приводят к сильному и статистически значимому снижению регуляции сортилина в лейкоцитах (**** $p < 0,0001$ по сравнению с контрольным IgG, односторонний анализ ANOVA).

На фиг. 22А-22D изображено позитивную корреляцию между уровнями IgG антител против сортилина и уровнями програнулинового белка (PGRN) в образцах головного мозга дикого типа (WT) мышей после 2 недель ICV-вливания. Отсутствует значимая корреляция с изотипным контрольным антителом. На фиг. 22А изображено анализ с антителом S-15. На фиг. 22В изображено анализ с антителом S-20. На фиг. 22С изображено анализ с антителом S-30. На фиг. 22D изображено анализ с изотипным контрольным антителом.

На фиг. 23А изображено уровни IgG, измеренные после ВВ инъекции 40 мг/кг антитела против сортилина S-15-6 huIgG1 N297А. Периоды полувыведения IgG увеличиваются с уменьшением уровней сортилина, что демонстрирует тот факт, что относительно короткий период полувыведения S-15-6 в организме мышей дикого типа (WT) происходит скорее из-за деградации после захвата мишени, чем из-за иммуногенности или другой неспецифической деградации. На фиг. 23В изображено повышенную базовую уровней програнулинового (PGRN) белка у мышей с нокаутом (KO) сортилина по сравнению с гетерозиготными (Het) по сортилину однопотомными мышами и мышами дикого типа (WT). Уровни PGRN измеряли в образцах плазмы с использованием анализа ELISA. На фиг. 23С изображено результаты, показывающие, что антитело S-15-6 индуцировало увеличение уровней програнулинового (PGRN) белка до восьми дней после инъекции мышам дикого типа (WT) и гетерозиготным (Het) по сортилину мышам, но не у мышей с нокаутом (KO) по сортилину. Черные стрелки указывают инъекцию антитела S-15-6 на сутки 7. **** $p < 0,0001$, n. s. - не значимый по одностороннему анализу ANOVA, KO по сравнению с Het и по сравнению с WT.

На фиг. 24 изображено результаты исследования индуцированного коллагеном артрита у мышей. Выполненные два раза в неделю инъекции 40 мг/кг антитела S-15-6 против сортилина значимо снижали показатели клинического артрита по сравнению с контрольными группами (ФСБ и МОРС-21/ msIgG1).

На фиг. 25А изображено уровни в сыворотке програнулина через 6 часов после введения LPS мышам дикого типа и мышам с нокаутом по сортилину (сортилин -/-). На фиг. 25В изображено количество перитонеальных нейтрофилов через 6 часов после введения LPS мышам дикого типа и мышам с нокаутом по сортилину (сортилин -/-). На фиг. 25С изображено количество больших перитонеальных макрофагов через 6 часов после введения LPS мышам дикого типа и мышам с нокаутом по сортилину (сортилин -/-). На фиг. 25D изображено количество малых перитонеальных макрофагов через 6 часов после введения LPS мышам дикого типа и мышам с нокаутом по сортилину (сортилин -/-). Данные результаты отображают повышенные уровни програнулина; однако количество перитонеальных нейтрофилов, больших перитонеальных макрофагов и малых перитонеальных макрофагов не имели статистически значимой разницы. Незакрашенные круги представляют мышей дикого типа, а незакрашенные квадраты представляют мышей с нокаутом по сортилину. n=8-10 мышей/группу. * $p < 0,01$, ** $p < 0,001$, *** $p < 0,001$ и **** $p < 0,0001$ по 1-стороннему ANOVA с тестом со множественными сравнениями Тьюки.

На фиг. 26А изображено уровни в сыворотке IL-6 через 1,5 часа после введения LPS мышам дикого типа и мышам с нокаутом по сортилину (сортилин -/-). На фиг. 26В изображено уровни в сыворотке TNF-альфа через 1,5 часа после введения LPS мышам дикого типа и мышам с нокаутом по сортилину (сортилин -/-). На фиг. 26С изображено уровни в сыворотке IFN-гамма через 1,5 часа после введения LPS мышам дикого типа и мышам с нокаутом по сортилину (сортилин -/-). На фиг. 26D изображено уровни в сыворотке IL-10 через 1,5 часа после введения LPS мышам дикого типа и мышам с нокаутом по сортилину (сортилин -/-). На фиг. 26Е изображено уровни в сыворотке IL-12p70 через 1,5 часа после введения LPS мышам дикого типа и мышам с нокаутом по сортилину (сортилин -/-). На фиг. 26F изображено уровни в сыворотке IL-12/IL-23p40 через 1,5 часа после введения LPS мышам дикого типа и мышам с нокаутом по сортилину (сортилин -/-). На фиг. 26G изображено уровни в сыворотке IL-1-альфа через 1,5

Подробное описание сущности изобретения

Общие методы.

Методы и процедуры, описанные или упомянутые в данном документе, в общем случае хорошо известны и обычно применяются специалистами в данной области техники с использованием обычной методики, такой как, например, широко используемые методики, описанные в

Sambrook et al.,
Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3rd edition (2001)
 Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.;
Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, et al. eds.,
 (2003)); серии *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.): *PCR*
2: A Practical Approach (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R.
 Taylor, eds., (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) *Antibodies*,
A Laboratory Manual, and *Animal Cell Culture* (R. I. Freshney,
 ed. (1987)); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait, ed., 1984);
Methods in Molecular Biology, Humana Press; *Cell Biology: A*
Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press;
Animal Cell Culture (R. I. Freshney), ed., 1987); *Introduction*
to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts,
 1998) Plenum Press; *Cell and Tissue Culture: Laboratory*
Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds.,
 1993-8) J. Wiley and Sons; *Handbook of Experimental Immunology*
 (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.); *Gene Transfer Vectors*
for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987);
PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994);
Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds.,
 1991); *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons,
 1999); *Immunobiology* (C. A. Janeway and P. Travers, 1997);
Antibodies (P. Finch, 1997); *Antibodies: A Practical Approach*
 (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); *Monoclonal Antibodies: A*
Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford
 University Press, 2000); *Using Antibodies: A Laboratory Manual*
 (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press,
 1999); *The Antibodies* (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood
 Academic Publishers, 1995); and *Cancer: Principles and Practice*
of Oncology (V. T. DeVita et al., eds., J. B. Lippincott
 Company, 1993).

Определения.

Как используется в данном документе, термин "предотвращение" включает обеспечение профилактики в отношении возникновения или рецидива конкретного заболевания, нарушения или патологического состояния у индивида. Индивид может быть предрасположен, восприимчив к конкретному заболеванию, нарушению или патологическому состоянию или подвергаться риску развития такого заболевания, нарушения или патологического состояния, но еще не иметь установленного диагноза заболевания, нарушения или патологического состояния.

Как используется в данном документе, индивид, "подвергающийся риску" развития конкретного заболевания, нарушения или патологического состояния может иметь или может не иметь обнаруживаемого заболевания или симптомов заболевания, и может иметь или может не иметь проявления обнаруживаемого заболевания или симптомов заболевания до начала использования способов лечения, описанных в данном документе. "Подвергающийся риску" означает, что индивид имеет один или более факторов риска, которые являются измеряемыми параметрами, которые коррелируют с развитием конкретного заболевания, нарушения или патологического состояния, как это известно в данной области техники. Индивид, имеющий один или более из этих факторов риска, имеет более высокую вероятность развития конкретного заболевания, нарушения или патологического состояния, чем индивид без одного или более из этих факторов риска.

Как используется в данном документе, термин "лечение" относится к клиническим вмешательствам, направленным на изменение естественного течения заболевания у индивидуума, подвергаемого лечению, в процессе клинической патологии. Требуемые эффекты лечения включают уменьшение скоро-

сти прогрессирования, уменьшение интенсивности или временное ослабление патологического состояния и ремиссию, или улучшенный прогноз конкретного заболевания, нарушения или патологического состояния. Индивид является успешно "прошедшим лечение", например, если один или более симптомов, связанных с конкретным заболеванием, нарушением или патологическим состоянием смягчается или устраняется.

"Эффективное количество" относится к по меньшей мере количеству, эффективному при таких дозировках и в течение таких периодов времени, которые необходимы для достижения требуемого терапевтического или профилактического результата. Эффективное количество может быть обеспечено за одно или более введений.

"Терапевтически эффективное количество" представляет собой по меньшей мере минимальную концентрацию, необходимую для осуществления измеримого улучшения конкретного заболевания, нарушения или патологического состояния. Терапевтически эффективное количество в данном документе может быть различным в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса тела пациента, и способности антитела против сортилина вызывать целевой ответ у индивида. Терапевтически эффективное количество также представляет собой количество, при использовании которого терапевтические благоприятные эффекты превосходят любые токсические или отрицательные эффекты антитела против сортилина.

Как используется в данном документе, введение "в сочетании" с другим соединением или композицией включает в себя одновременное введение и/или введение в разное время. Введение в сочетании также включает в себя введение как совместной лекарственной формы, так и введение в форме отдельных композиций, включая различные частоты приема или интервалы, и использование одного способа введения или разных способов введения.

"Индивид" в целях лечения, предупреждения или снижения риска относится к любому животному, относящемуся к классу млекопитающих, включая людей, домашних и сельскохозяйственных животных, а также зоопарковых животных, животных для участия в спортивных мероприятиях или домашних любимцев, таких как собаки, лошади, кролики, крупный рогатый скот, свиньи, хомяки, песчанки, мыши, хорьки, крысы, кошки и тому подобные. Предпочтительно, индивид представляет собой человека.

Термин "иммуноглобулин" (Ig) используется в данном документе взаимозаменяемо с термином "антитело". В данном документе термин "антитело" используется в самом широком смысле и конкретно охватывает моноклональные антитела, поликлональные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), образованные, по меньшей мере, из двух интактных антител, и фрагменты антител, при условии, что они проявляют требуемую биологическую активность.

Основная единица 4-цепочечного антитела представляет собой гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Объединение в пару V_H и V_L приводит к формированию единичного антигенсвязывающего сайта. Структуру и свойства различных классов антител см., например, Basic and Clinical Immunology, 8th Ed., Daniel P. Stites, Abba I. Terg and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 and Chapter 6.

L-цепь любого вида позвоночных животных может быть отнесена к одному из двух четко различаемых типов, называемых каппа ("κ") и лямбда ("λ"), исходя из аминокислотных последовательностей их консервативных доменов. В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей (CH), иммуноглобулины могут быть отнесены к разным классам или изотипам. Существует пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, имеющие тяжелые цепи, обозначенные соответственно альфа ("α"), дельта ("δ"), эпсилон ("ε"), гамма ("γ") и мю ("μ"). Классы γ и α дополнительно подразделяются на подклассы (изотипы) на основании относительно незначительных различий в последовательности CH и функции, например у человека экспрессируются следующие подклассы: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Хорошо известны субъединичная структура и трехмерная конфигурация различных классов иммуноглобулинов, которые в целом описаны, например, в публикации Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. (W. B. Saunders Co., 2000).

"Нативные антитела" обычно представляют собой гетеротетрамерные гликопротеины с молекулярной массой около 150000 дальтон, состоящие из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. Каждая легкая цепь связана с тяжелой цепью одной ковалентной дисульфидной связью, хотя количество дисульфидных связей варьирует среди тяжелых цепей различных изотипов иммуноглобулинов. Каждая тяжелая и легкая цепи также содержат регулярно расположенные внутрицепочечные дисульфидные мостики. На одном конце каждой тяжелой цепи находится вариабельный домен (V_H), а за ним - ряд константных доменов. На одном конце каждой легкой цепи находится вариабельный домен (V_L), а на другом конце - константный домен; константный домен легкой цепи выровнен с первым константным доменом тяжелой цепи, а вариабельный домен легкой цепи выровнен с вариабельным доменом тяжелой цепи. Считается, что конкретные аминокислотные остатки образуют область взаимодействия между вариабельными доменами легкой и тяжелой цепи.

"Выделенное" антитело, такое как антитело против сортилина по настоящему описанию, представляет собой антитело, которое идентифицируется, выделяется и/или извлекается из компонента его окру-

жающей среды при получении (например, природным или рекомбинантным путем). Предпочтительно выделенный полипептид не связан со всеми другими компонентами загрязняющих веществ из его окружающей среды при получении. Загрязняющие компоненты из его окружающей среды при получении, такие как те, которые получены из рекомбинантных трансфицированных клеток, представляют собой материалы, которые могут отрицательно влиять на исследовательское, диагностическое или терапевтические применения антитела, и могут включать в себя ферменты, гормоны и другие белковые или небелковые растворимые вещества. В предпочтительных вариантах реализации изобретений полипептид будет очищен: (1) более чем на 95% по массе антитела, как определено, например, по методу Лоури, а в некоторых вариантах реализации изобретения - более чем на 99% по массе; (2) до достаточной степени для получения по меньшей мере 15 остатков N-концевой или внутренней аминокислотной последовательности посредством использования секвенатора с вращающейся чашкой, или (3) до гомогенности, определяемой с помощью ДСН-ПААГ при восстанавливающих или невосстанавливающих условиях с использованием окрашивания с помощью Кумасси синего или, предпочтительно, окрашивания серебром. Выделенное антитело включает антитело *in situ* внутри рекомбинантных Т-клеток, поскольку по меньшей мере один компонент природной среды антитела будет отсутствовать. Обычно, как правило, выделенный полипептид или антитело будут получены посредством по меньшей мере одного этапа очистки.

"Вариабельный участок" или "вариабельный домен" антитела, такого как антитело против сортилина по настоящему описанию, относится к аминоконцевым доменам тяжелой или легкой цепи антитела. Вариабельные домены тяжелой цепи и легкой цепи могут обозначаться как "V_H" и "V_L", соответственно. Эти домены обычно являются наиболее вариабельными частями антитела (по сравнению с другими антителами того же класса) и содержат антигенсвязывающие сайты.

Термин "вариабельный" относится к тому факту, что среди антител некоторые сегменты вариабельных доменов сильно различаются по последовательностям, например антитела против сортилина по настоящему описанию. V-домен опосредует антигенное связывание и определяет специфичность конкретного антитела к своему конкретному антигену. В то же время, вариабельность не является равномерно распределенной по всему диапазону вариабельных доменов. Вместо этого она сосредоточена в трех сегментах вариабельных доменов как легкой, так и тяжелой цепи, называемых гипервариабельными участками (HVR). Более консервативные части вариабельных доменов называются каркасными участками (FR). Каждый вариабельный домен нативных тяжелых и легких цепей содержит четыре FR-участка, преимущественно принимающих конфигурацию бета-листа и соединенных тремя HVR, образующими петли, соединяющие структуры бета-типа, а в некоторых случаях - являющиеся их частью. HVR в каждой цепи объединены друг с другом в непосредственной близости от FR-участков и, вместе с HVR другой цепи, участвуют в образовании антигенсвязывающего сайта антител (см. Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)). Константные домены не принимают непосредственного участия в связывании антитела с антигеном, однако проявляют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антитело зависимой клеточной токсичности.

Как используется в данном документе, термин "моноклональные антитело" относится к антителу, такому как антитело против сортилина по настоящему описанию, полученному из популяции по существу однородных антител, т.е. из популяции, отдельные антитела в которой являются идентичными, за исключением возможных природных мутаций и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризации, амидирования), которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифичными и направлены против одного или более антигенных сайтов. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело по настоящему описанию может быть биспецифическим антителом. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые, как правило, включают различные антитела, направленные против различных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против единственной детерминанты на одном или более антигенных сайтах. Модификатор "моноклональное" указывает на то свойство, что антитело получено из практически однородной популяции антител; и его не следует интерпретировать как требование о продукции антитела посредством какого-либо конкретного способа. Например, моноклональные антитела, которые предполагается применять в соответствии с настоящим описанием, могут быть получены различными методиками, включая, например, технологии фагового дисплея (см., например, Clackson et al., *Nature*, 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-472 (2004); и Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004), гибридомный метод (например, Kohler and Milstein., *Nature*, 256: 495-97 (1975); Hongoet al., *Hybridoma*, 14(3): 253-260 (1995), Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2d ed. 1988); Hammerling et al., in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681 (Elsevier, N. Y., 1981)), методы рекомбинантных ДНК (см., например, патент США № 4816567) и технологии продукции антител человека или аналогов антител человека в организмах животных, содержащих части или полные локусы или гены иммуноглобулинов человека, кодирующие последовательности иммуноглобулинов человека (см., например, WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO 1991/10741; Jakobovits et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 90: 2551 (1993); Jakobovits et al., *Nature* 362: 255-258 (1993); Bruggemann et al., *Year in Immunol.* 7: 33

(1993); патенты США №5545807; 5545806; 5569825; 5625126; 5633425 и 5661016; Marks et al., Bio/Technology 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., Nature 368: 856-859 (1994); Morrison, Nature 368: 812-813 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnol. 14: 845-851 (1996); Neuberger, Nature Biotechnol. 14: 826 (1996); и Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93 (1995).

Термины "полноразмерное антитело", "интактное антитело" или "полное антитело" используются взаимозаменяемо для обозначения антитела, такого как антитело против сортилина по настоящему описанию в его, по существу, интактной форме, в отличие от фрагмента антитела. Конкретнее, полные антитела включают в себя антитела, обладающие тяжелой и легкой цепями, включая Fc-участок. Константные домены могут быть константными доменами нативной последовательности (например, человеческими константными доменами нативной последовательности) или их вариантами аминокислотной последовательности. В некоторых случаях интактное антитело может иметь одну или более эффекторных функций.

"Фрагмент антитела" содержит часть интактного антитела, предпочтительно антигенсвязывающий и/или вариабельный участок интактного антитела. Примеры фрагментов антител включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv; диатела; линейные антитела (см. патент США 5641870, пример 2; Zapata et al., Protein Eng. 8(10): 1057-1062 (1995)); молекулы антител с одной цепью и мультиспецифические антитела, сформированные из фрагментов антител.

При расщеплении папаином антител, таких как антитела против сортилина по настоящему описанию, образуются два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемые фрагментами "Fab", и остаточный фрагмент "Fc", указывающий на хорошую способность к кристаллизации. Фрагмент Fab состоит из целой L-цепи вместе с доменом вариабельной области H-цепи (V_H) и первым константным доменом одной из тяжелых цепей (C_{H1}). Каждый фрагмент Fab является моновалентным по отношению к связыванию с антигеном, т.е. содержит единственный сайт связывания с антигеном. Обработка антитела пепсином позволяет выделить одиночный крупный фрагмент F(ab')₂, который приблизительно соответствует двум фрагментам Fab с различной антигенсвязывающей активностью, соединенным дисульфидной связью, и сохраняет способность к перекрестному сшиванию антигена. Фрагменты Fab' отличаются от фрагментов Fab тем, что несут несколько дополнительных остатков на карбоксиконце домена C_{H1}, включая один или более остатков цистеина из шарнирного участка антитела. Fab'-SH - это обозначение, используемое в настоящем документе для Fab', в котором остаток(ки) цистеина константных доменов содержит(ат) свободную тиольную группу. Фрагменты антител F(ab')₂ первоначально получали в виде пар фрагментов Fab', между которыми расположены шарнирные остатки цистеина. Кроме того, известны другие варианты химического соединения фрагментов антител.

Фрагмент Fc содержит карбоксиконцевые части обеих H-цепей, соединенные друг с другом дисульфидными связями. Эффекторные функции антител определяются последовательностями Fc-участка, который также распознается рецепторами Fc (FcR), встречающимися на некоторых типах клеток.

"Fv" представляет собой минимальный фрагмент антитела, содержащий полный сайт распознавания и связывания антигена. Этот фрагмент состоит из димера доменов вариабельного участка одной тяжелой и одной легкой цепей, жестко связанных посредством нековалентных связей. При укладке этих двух доменов наружу выступают шесть гипервариабельных петель (по 3 петли каждой из H- и L-цепей), аминокислотные участки которых участвуют в связывании с антигеном и придают антителу специфичность по отношению к связыванию антигена. В то же время даже один вариабельный домен (или половина Fv, содержащая только три HVR, специфичных по отношению к антигену) обладает способностью распознавать и связывать антиген, хотя и с более низкой аффинностью, чем полный сайт связывания.

"Одноцепочечные Fv", также сокращенно обозначаемые как "sFv" или "scFv" представляют собой фрагменты антител, включающие домены V_H и V_L антител, соединенные в составе одиночной полипептидной цепи. Предпочтительно, полипептид sFv дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами V_H и V_L, позволяющий sFv формировать структуру, требуемую для связывания с антигеном. Для обзора sFv, см. Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, p. 269-315 (1994).

"Функциональные фрагменты" антител, таких как антитела против сортилина по настоящему описанию, содержат часть интактного антитела, как правило, включающую антигенсвязывающий или вариабельный участок интактного антитела или F-участок антитела, который сохраняет способность связывания FcR или обладает модифицированной способностью связывания FcR. Примеры фрагментов антитела включают линейное антитело, молекулы одноцепочечного антитела и полиспецифичные антитела, образованные из фрагментов антитела.

Термин "диатела" относится к небольшим фрагментам антител, полученным путем конструирования фрагментов sFv (см. предыдущий абзац) с короткими линкерами (около 5-10 остатков) между доменами V_H и V_L, благодаря чему достигается межцепочечное, а не внутрицепочечное сопряжение доменов V, приводящее к образованию бивалентного фрагмента, т.е. фрагмента, несущего два сайта связывания с антигеном. Биспецифические диатела представляют собой гетеродимеры из двух "пересекающихся" фрагментов sFv, в которых домены V_H и V_L двух антител присутствуют на различных полипептидных цепях. Диатела подробнее описаны, например, в EP 404097; WO 93/11161 и Hollinger et al., Proc. Nat'l

Acad. Sci. USA 90: 6444-48 (1993).

Как используется в данном документе, "химерное антитело" относится к антителу (иммуноглобулину), такому как антитело против сортилина по настоящему описанию, в котором часть тяжелой и/или легкой цепи является идентичной или гомологичной соответствующим последовательностям в антителах, полученных из конкретного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, в то время как оставшаяся часть цепи(ей) является идентичной или гомологичной соответствующим последовательностям в антителах, полученных из другого вида или принадлежащих другому классу или подклассу антител, а также фрагменты таких антител, при условии, что они проявляют требуемую биологическую активность (патент США № 4816567; Morrison et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 81: 6851-55 (1984)). Представляющие интерес химерные антитела в данном документе включают антитела PRIMA-TIZED®, причем антигенсвязывающий участок антитела образован антителом, полученным, например, путем иммунизации макака представляющим интерес антигеном. Как используется в данном документе, "гуманизированное антитело" применяют в качестве подтипа "химерных антител".

"Гуманизированные" формы антител, отличных от человеческих (например, мышиных), таких как антитела против сортилина по настоящему описанию, представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, образованную иммуноглобулином нечеловеческого происхождения. В одном варианте реализации изобретения гуманизированное антитело представляет собой иммуноглобулин человека (реципиентное антитело), в котором остатки из HVR реципиента заменены остатками HVR не относящегося к человеку вида (донорное антитело), такого как мышь, крыса, кролик или не относящийся к человеку примат, имеющим требуемую специфичность, аффинность и емкость. В некоторых случаях FR-остатки иммуноглобулина человека заменяют соответствующими остатками нечеловеческого происхождения. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, не встречающиеся в реципиентном антителе или донорном антителе. Эти модификации могут быть внесены для дополнительного улучшения характеристики антитела, такой как аффинность связывания. Как правило, гуманизированное антитело будет содержать по существу все, по меньшей мере из одного и, как правило, двух переменных доменов, в которых все или по существу все из гипервариабельных петель соответствуют гипервариабельным петлям последовательности иммуноглобулина нечеловеческого происхождения, и все или по существу все из участков FR представляют собой участки FR последовательности иммуноглобулина человека, хотя участки FR могут включать замену одного или более отдельных остатков FR, которые улучшают характеристики антитела, такие как аффинность связывания, изомеризация, иммуногенность и т. п. Количество этих аминокислотных замен в FR, как правило, составляет не более 6 в Н-цепи, и не более 3 в L-цепи. Гуманизированное антитело также необязательно содержит по меньшей мере часть константного участка иммуноглобулина (Fc), обычно происходящую из иммуноглобулина человека. Более подробные данные, см., например, Jones et al., Nature 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332: 323-329 (1988); и Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2: 593-596 (1992). См. также, например, Vaswani and Hamilton, Akk. Allergy, Asthma & Immunol. 1: 105-115 (1998); Harris, Biochem. Soc. Transactions 23: 1035-1038 (1995); Hurler and Gross, Curr. Op. Biotech. 5: 428-433 (1994); и патенты США №6982321 и 7087409.

"Антитело человека" представляет собой антитело, которое обладает аминокислотной последовательностью, соответствующей последовательности антитела, такое как антитело против сортилина по настоящему описанию, продуцируемое организмом человека и/или полученное с использованием любого из методик получения антител человека, как описано в данном документе. Из этого определения антитела человека, в частности, исключено гуманизированное антитело, содержащее антигенсвязывающие остатки нечеловеческого происхождения. Антитела человека можно получать, используя различные методики, известные в данной области техники, в том числе библиотеки фагового дисплея. Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581 (1991). Также для получения моноклональных антител человека доступны способы, описанные в Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., J. Immunol., 147(1): 86-95 (1991). См. также, van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001). Антитела человека можно получать введением антигена трансгенному животному, которое модифицировано для продукции таких антител в ответ на иммунизацию антигеном, и эндогенные локусы которого заблокированы, например, иммунизированных ксеномышей (см., например, патент США №6075181 и 6150584, касательно технологии XEN-OMOUSE™). См. также, например, Li et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 103: 3557-3562 (2006) касательно антител человека, полученных посредством гибридомной технологии с В-клетками человека.

Как используют в данном документе, термин "гипервариабельный участок", "HVR" или "HV" относится к участкам переменного домена антитела, такого как в антитела против сортилина по настоящему описанию, которые обладают гипервариабельными последовательностями и/или образуют структурно определенные петли. Как правило, антитела содержат шесть HVR: три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3). В природных антителах H3 и L3 характеризуются наибольшим разнообразием из шести HVR, и в частности, считается, что H3 играет уникальную роль в сообщении антителам высокой специфичности. См., например, Xu et al., Immunity 13: 37-45 (2000); Johnson and Wu in Methods in Molecular Biology 248:

1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)). Фактически, антитела верблюдовых природного происхождения, состоящие только из тяжелой цепи, являются функциональными и стабильными в отсутствие легкой цепи. См., например, Hamers-Casterman et al., *Nature* 363: 446-448 (1993) and Sheriff et al., *Nature Struct. Biol.* 3: 733-736 (1996).

Существует ряд определений HVR, охватываемых настоящей заявкой. HVR, которые представляют собой определяющие комплементарности участки по EU или Kabat (CDR), основанные на вариабельности последовательностей и используемые наиболее широко (Kabat et al., выше). Chothia вместо этого указывает на расположение структурных петель (Chothia and Lesk J. *Mol. Biol.* 196: 901-917 (1987)). Участки HVR AbM представляют собой компромисс между CDR по EU или Kabat и структурными петлями Chothia, и они используются программным обеспечением для моделирования антител Oxford Molecular's AbM. Определение "контактных" HVR основано на анализе доступных кристаллических структур комплексов. Остатки каждого из указанных HVR отмечены ниже.

Петля Kabat AbM Chothia Контакт

L1 L24-L34 L24-L34 L26-L32 L30-L36

L2 L50-L56 L50-L56 L50-L52 L46-L55

L3 L89-L97 L89-L97 L91-L96 L89-L96

H1 H31-H35B H26-H35B H26-H32 H30-H35B (нумерация Kabat)

H1 H31-H35 H26-H35 H26-H32 H30-H35 (нумерация Chothia)

H2 H50-H65 H50-H58 H53-H55 H47-H58

H3 H95-H102 H95-H102 H96-H101H 93-H101

HVR могут содержать "расширенные HVR", следующего описания: 24-36 или 24-34 (L1), 46-56 или 50-56 (L2), и 89-97 или 89-96 (L3) в VL, и 26-35 (H1), 50-65 или 49-65 (предпочтительный вариант реализации изобретения) (H2), и 93-102, 94-102 или 95-102 (H3) в VH. Остатки вариабельных доменов пронумерованы согласно EU и Kabat et al., выше, для каждого из этих определений удлинённых HVR.

"Остатки" каркасного участка или "FR" представляют собой остатки вариабельного домена, отличные от остатков HVR, как определено в данном документе.

Фраза "нумерация остатков вариабельных доменов по EU или Kabat" или "нумерация положений аминокислот по EU или Kabat" и их вариации, относятся к системе нумерации, используемой для вариабельных доменов тяжелой цепи или вариабельных доменов легкой цепи компиляции антител в EU или Kabat et al., выше. При использовании указанной системы нумерации фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньшее количество аминокислот или дополнительные аминокислоты, соответствующие укорачиванию или инсерции в FR или HVR вариабельного домена. Например, вариабельный домен тяжелой цепи может включать вставку одной аминокислоты (остаток 52a согласно Kabat) после остатка 52 H2 и дополнительные остатки (например, остатки 82a, 82b и 82c и т.д. согласно Kabat) после остатка 82 FR тяжелой цепи. Нумерацию остатков по EU или Kabat можно определять для данного антитела путем выравнивания областей гомологии последовательности антитела со "стандартной" пронумерованной по Kabat последовательностью.

Система нумерации по EU или Kabat, как правило, используется, когда речь идет об остатке в вариабельном домене (приблизительно остатки 1-107 легкой цепи и остатки 1-113 тяжелой цепи) (например, Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). Как правило, "система нумерации по EU или Kabat" или "индекс EU" используется, когда речь идет об остатке константного участка тяжелой цепи иммуноглобулина (например, индекс EU, описанный в Kabat et al., выше). "Индекс EU, как по Kabat" относится к нумерации остатков EU IgG1-антитела человека. Если в данном документе не указано иное, ссылки на номера остатков в вариабельном домене антител означают нумерацию остатков по системе нумерации Kabat. Если в данном документе не указано иное, ссылки на номера остатков в константном домене антител означают нумерацию остатков по системе нумерации EU или Kabat (например, см. патентную публикацию США №2010-280227).

Как используется в данном документе, "акцепторный каркасный участок человека" представляет собой каркасный участок, содержащий аминокислотную последовательность каркасного участка VL или VH, образованную из каркасного участка иммуноглобулина человека или консенсусной последовательности каркасного участка человека. Акцепторный каркасный участок человека, "образованный из" каркасного участка иммуноглобулина человека или консенсусной последовательности каркасного участка человека, может содержать такую же аминокислотную последовательность, как эти участки, или может содержать ранее существовавшие изменения в аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах реализации изобретения число ранее существовавших аминокислотных изменений составляет 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее, 3 или менее, или 2 или менее. Если ранее существовавшие аминокислотные изменения имеются в VH, предпочтительно, эти изменения происходят только в трех, двух или в одном из положений 71H, 73H и 78H; например, аминокислотные замены в этих положениях могут быть 71A, 73T и/или 78A. В одном варианте

реализации изобретения последовательность акцепторного каркасного участка VL человека идентична последовательности каркасного участка VL человека или консенсусной последовательности каркасного участка человека.

"Консенсусный каркас человека" является каркасом, представляющим наиболее распространенные аминокислотные остатки в выборке каркасных последовательностей VL или VH иммуноглобулина человека. Как правило, отбор последовательностей VL или VH иммуноглобулина человека осуществляют из подгруппы последовательностей переменных доменов. Как правило, подгруппа последовательностей представляет собой подгруппу по Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991). Примеры включают VL, подгруппа может быть подгруппой каппа I, каппа II, каппа I, каппа IV, как в Kabat et al., выше. Дополнительно для VH, подгруппа может быть подгруппой I, подгруппой II или подгруппой III, как в Kabat et al., выше.

"Модификация аминокислот" в указанном положении, например антитела против сортилина по настоящему описанию, относится к замене или делеции указанного остатка, или вставке по меньшей мере одного аминокислотного остатка рядом с указанным остатком. Вставка "рядом" с указанным остатком означает вставку в пределах одного или двух остатков от него. Вставка может быть N-концевой или C-концевой относительно указанного остатка. Предпочтительной модификацией аминокислот в данном документе является замена.

"Антитело с созревшей аффинностью", такое как антитело против сортилина по настоящему описанию, представляет собой антитело с одним или более изменениями в одном или более его HVR, которые приводят к повышению аффинности антитела к антигену по сравнению с исходным антителом, которое не обладает этим изменением(ями). В одном варианте реализации изобретения антитело с созревшей аффинностью обладает наномолярной или даже пикомолярной аффинностью к антигену-мишени. Антитела с созревшей аффинностью получают способами, известными в данной области техники. Например, Marks et al., *Bio/Technology* 10: 779-783 (1992) описывает созревание аффинности путем перетасовки VH- и VL-доменов. Случайный мутагенез остатков HVR и/или каркасного участка описан, например: Barbas et al. *Proc Nat. Acad. Sci. USA* 91: 3809-3813 (1994); Schier et al. *Gene* 169: 147-155 (1995); Yelton et al. *J. Immunol.* 155: 1994-2004 (1995); Jackson et al., *J. Immunol.* 154(7): 3310-9 (1995); и Hawkins et al, *J. Mol. Biol.* 226: 889-896 (1992).

Как используется в данном документе термин "специфически распознает" или "специфически связывает" относится к измеряемым и воспроизводимым взаимодействиям, таким как притяжение или связывание между мишенью и антителом, например, между антителом против сортилина по настоящему описанию, что является решающим фактором присутствия мишени в присутствии гетерогенной популяции молекул, включая биологические молекулы. Например, антитело, такое как антитело против сортилина по настоящему описанию, которое специфически или предпочтительно связывает мишень или эпитоп, представляет собой антитело, которое связывает эту мишень или эпитоп с большей аффинностью, avidностью, более легко и/или более продолжительно, чем оно связывается с другими мишенями или другими эпитопами мишени. Из этого определения становится также понятно, например, и то, что антитело (или его фрагмент), которое специфически или предпочтительно связывается с первой мишенью, может или не может специфически или предпочтительно связываться со второй мишенью. Как таковое, "специфическое связывание" или "предпочтительное связывание" необязательно требует (хотя оно может и включать в себя) исключительное связывание. Антитело, которое специфически связывается с мишенью, может иметь значение константы ассоциации по меньшей мере около 10^3 M^{-1} или 10^4 M^{-1} , в отдельных случаях около 10^5 M^{-1} или 10^6 M^{-1} , в других примерах около 10^6 M^{-1} или 10^7 M^{-1} , около от 10^8 M^{-1} до 10^9 M^{-1} или около 10^{10} M^{-1} до 10^{11} M^{-1} или выше. Для отбора антител, обладающих специфической иммунореактивностью в отношении конкретного белка, могут быть использованы разные иммуноанализы. Например, твердофазные иммунологические анализы ELISA, применение которых вошло в повседневную практику, используются для отбора моноклональных антител, обладающих специфической иммунореактивностью с белком. См., например, Harlow and Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, New York, для описания форматов и условий иммунологических анализов, которые могут использоваться для определения специфической иммунореактивности.

Как используется в данном документе, "взаимодействие" между белком сортилином и вторым белком охватывает, без ограничения, белок-белковое взаимодействие, физическое взаимодействие, химическое взаимодействие, связывание, ковалентное связывание и ионное связывание. Как используется в данном документе, антитело "ингибирует взаимодействие" между двумя белками, в случае если антитело нарушает, снижает или полностью устраняет взаимодействие между двумя белками. Антитело или его фрагмент по настоящему описанию "ингибирует взаимодействие" между двумя белками, в случае если антитело или его фрагмент связывается с одним из этих двух белков.

"Блокирующее" антитело, антитело-"антагонист", или "ингибирующее" антитело представляет собой антитело, такое как антитело против сортилина по настоящему описанию, которое ингибирует или снижает одну или более биологических активностей антигена, который оно связывает, таким образом как взаимодействия с одним или более белками. В некоторых вариантах реализации изобретения блокирующие антитела, антитела-антагонисты или ингибирующие антитела практически или полностью ингиби-

руют одну или более биологических активностей или взаимодействий антигена.

"Эффекторные функции" антитела относятся к биологической активности, обусловленной Fc-участком (Fc-участком с нативной последовательности или варианта аминокислотной последовательности Fc-участка) антитела и варьируют в зависимости от изотипа антитела.

Термин "Fc-участок" применяется в данном документе для определения C-концевого участка тяжелой цепи иммуноглобулина, включая Fc-участки нативной последовательности и вариантов Fc-участков. Хотя границы Fc-участка тяжелой цепи иммуноглобулина могут меняться, Fc-участок тяжелой цепи IgG человека обычно определяют как протяженность от аминокислотного остатка в положении Cys226 или от Pro230 до его карбокси-конца. C-концевой остаток лизина (остаток 447 по системе нумерации EU или Kabat) Fc-участка может быть удален, например, в процессе продуцирования или очистки антитела, или посредством рекомбинантного конструирования нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Соответственно, композиция интактных антител может содержать популяции антител, у которых удалены все остатки K447, популяции антител, у которых не удален ни один остаток K447, и популяции антител, содержащих смесь антител, имеющих остаток K447 и не имеющих его. Подходящие Fc-участки с нативной последовательностью для применения в антителах по настоящему описанию включают IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека.

"Fc-участок нативной последовательности" содержит аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности природного Fc-участка. Fc-участки нативной последовательности включают Fc-участок нативной последовательности человеческого IgG1 (аллотипы не-A и A); Fc-участок нативной последовательности человеческого IgG2; Fc-участок нативной последовательности человеческого IgG3 и Fc-участок нативной последовательности человеческого IgG4, а также их варианты природного происхождения.

"Вариант Fc-участка" содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от аминокислотной последовательности Fc-участка нативной последовательности за счет модификации по меньшей мере одной аминокислоты, предпочтительно путем одной или более аминокислотных замен. Предпочтительно вариант Fc-участка содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с нативной последовательностью Fc-участка или с Fc-участком исходного полипептида, например, содержит от около одной до около десяти аминокислотных замен и предпочтительно от около одной до около пяти аминокислотных замен в нативной последовательности Fc-участка или в Fc-участка исходного полипептида. Вариантный Fc-участок в данном документе предпочтительно обладает по меньшей мере около 80% гомологии с Fc-участком нативной последовательности и/или Fc-участком исходного полипептида, а наиболее предпочтительно по меньшей мере около 90% гомологии, более предпочтительно по меньшей мере на около 95% гомологии с ним.

"Fc-рецептор" или "FcR" описывает рецептор, который связывается с Fc-участком антитела. Предпочтительным FcR является FcR человека с нативной последовательностью. Более того, предпочтительный FcR представляет собой рецептор, который связывает антитело IgG (гамма-рецептор) и включает рецепторы подклассов FcγRI, FcγRII и FcγRIII, включая аллельные варианты и альтернативно сплайсируемые формы этих рецепторов, рецепторы FcγRII включают FcγRIIA ("активирующий рецептор") и FcγRI IB ("ингибирующий рецептор"), которые имеют сходные аминокислотные последовательности, которые различаются главным образом своими цитоплазматическими доменами. Активирующий рецептор FcγRIIA содержит в своем цитоплазматическом домене иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив ("ITAM"). Ингибирующий рецептор FcγRIIB содержит в своем цитоплазматическом домене иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив ("ITIM"). (см., например, M. Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15: 203-234 (1997)). Обзор по FcR содержится в Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-92 (1991); Capel et al., *Immunomethods* 4: 25-34 (1994); и de Haas et al., *J. Lab. Clin. Med.* 126: 330-41 (1995). Другие FcR, включая те, что будут идентифицированы в будущем, в данном документе охватываются термином "FcR". FcR также могут увеличивать период полувыведения антител из сыворотки.

Анализ связывания с FcRn *in vivo* и период полувыведения из сыворотки полипептидов с высокой аффинностью связывания с человеческим FcRn можно осуществлять, например, на трансгенных мышах или на трансфицированных линиях клеток человека, экспрессирующих человеческий FcRn, или на приматах, которым вводят полипептиды с вариантом Fc-участка. В WO 2004/42072 (Presta) описаны варианты антител с повышенным или пониженным связыванием с FcR. См. также, например, Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001).

Как используется в данном документе, "процент (%)" идентичности аминокислотной последовательности и "гомология" относительно пептидной, полипептидной последовательности или последовательности антитела означает процентное содержание аминокислотных остатков в потенциальной последовательности, идентичной по аминокислотным остаткам в конкретной пептидной или полипептидной последовательности, после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если это необходимо, для достижения максимальной процентной идентичности последовательностей, и не рассматривая любые консервативные замены как часть идентичности последовательностей. Выравнивание для целей опреде-

ления процентной идентичности аминокислотных последовательностей можно осуществлять различными способами, известными специалистам в данной области техники, например, используя общедоступное компьютерное программное обеспечение, например, программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALIGN™ (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определять соответствующие параметры для измерения степени выравнивания, включая любые алгоритмы, известные в данной области техники, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей.

"Выделенная" молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая антитело, такое как антитело против сортилина по настоящему описанию, представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая идентифицирована и отделена по меньшей мере от одной загрязняющей молекулы нуклеиновой кислоты, с которой она обычно связана в окружающей среде, в которой она была произведена. Предпочтительно, выделенная нуклеиновая кислота не связана со всеми компонентами, с которыми она связана в среде продуцирования. Выделенные молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие полипептиды и антитела, описанные в данном документе, представлены в иной форме, чем форма или условия, в которых они находятся в природе. Следовательно, выделенные молекулы нуклеиновых кислот отличаются от нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептиды и антитела, описанные в данном документе, существующей естественным образом в клетках.

Как используется в данном документе термин "вектор" предназначен для обозначения молекулы нуклеиновой кислоты, способной транспортировать другую нуклеиновую кислоту, с которой она связана. Одним типом вектора является "плазмида", которая относится к кольцевой двухцепочечной ДНК, с которой могут быть лигированы дополнительные сегменты ДНК. Другим типом вектора является фаговый вектор. Другим типом вектора является вирусный вектор, причем дополнительные сегменты ДНК могут быть лигированы в вирусный геном. Некоторые векторы способны к автономной репликации в клетке-хозяине, в которую они введены (например, бактериальные векторы, имеющие бактериальный сайт инициации репликации и эписомные векторы млекопитающих). Другие векторы (например, неэписомные векторы млекопитающих) можно интегрировать в геном клетки-хозяина при введении в клетку-хозяина, и, таким образом, они реплицируются вместе с геномом хозяина. Кроме того, некоторые векторы способны контролировать экспрессию генов, с которыми они функционально связаны. В данном документе такие векторы называются "рекомбинантными экспрессионными векторами" или просто "экспрессионными векторами". Как правило, экспрессионные векторы, применяемые в методах рекомбинантной ДНК, часто находятся в виде плазмид. В настоящем описании термины "плазмида" и "вектор" могут употребляться взаимозаменяемо, так как плазмида является наиболее часто используемой формой вектора.

Термины "полинуклеотид" или "нуклеиновая кислота", используемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к полимерам нуклеотидов любой длины и включают ДНК и РНК. Нуклеотиды могут представлять собой дезоксирибонуклеотиды, рибонуклеотиды, модифицированные нуклеотиды или основания, и/или их аналоги, или любой субстрат, который можно включить в полимер с помощью ДНК- или РНК-полимеразы или реакции синтеза. Полинуклеотид может содержать модифицированные нуклеотиды, например, метилированные нуклеотиды и их аналоги. В случае ее присутствия, модификацию нуклеотидной структуры можно осуществлять до или после сборки полимера. Последовательность нуклеотидов может прерываться ненуклеотидными компонентами. Полинуклеотид может содержать модификацию(и), осуществленную после синтеза, такую как конъюгация с меткой. Другие типы модификации включают, например, "кэпы", замену одного или более нуклеотидов природного происхождения на аналог, межнуклеотидные модификации, например, такие как, например, модификации за счет не имеющих заряда связей (например, метилфосфонаты, фосфотриэфиры, фосфоамидаты, карбаматы и т.п.) и за счет имеющих заряд связей (например, фосфоротиоаты, фосфородитиоаты и т.п.), модификации, содержащие боковые фрагменты, например, такие как белки (например, нуклеазы, токсины, антитела, сигнальные пептиды, *ply*-L-лизин и т. п.), модификации с интеркалирующими веществами (например, акридин, псорален и т. п.), модификации с хелатирующими веществами (например, металлы, радиоактивные металлы, бор, металлы-окислители и т. п.), модификации с алкилирующими агентами, такими как модифицирующие связи (например, альфа-аномерные нуклеиновые кислоты и т. п.), а также немодифицированные формы полинуклеотида(ов). Кроме того, любая из гидроксильных групп, обычно имеющаяся в сахарах, может быть замещена, например, фосфонатными группами, фосфатными группами, защищена обычными защитными группами или активирована с целью образования дополнительных связей с дополнительными нуклеотидами, или может быть конъюгирована с твердыми или полутвердыми подложками. Концевые группы 5' и 3' ОН могут быть фосфорилированными или могут быть заменены аминокислотными группами или органическими кэпирующими группами, содержащими от 1 до 20 углеродных атомов. Другие гидроксильные группы также могут быть дериватизированы обычными защитными группами. Полинуклеотиды могут также содержать аналоги сахаров рибозы или дезоксирибозы, которые, как правило, известны в данной области техники, включая, например, 2'-О-метил-, 2'-О-аллил-, 2'-фтор- или 2'-азидорибозу, карбоциклические аналоги Сахаров, α-аномерные сахара, эпимерные сахара, такие как арабиноза, ксилозы или ликсозы, пиранозные сахара, фуранозные сахара, седогептулозы, ациклические ана-

логи и основные нуклеозидные аналоги, такие как метилрибозид. Одну или более фосфодиэфирных связей можно замещать альтернативными связывающими группами. Эти альтернативные связывающие группы включают, но не ограничиваются ими, варианты реализации изобретения, в которых фосфатная группа заменена на P(O)S ("тиоат"), P(S)S ("дитиоат"), (O)NR₂ ("амидат"), P(O)R, P(O)OR', CO или CH₂ ("формацеталь"), где каждый заместитель R или R' независимо обозначает H или замещенный, или незамещенный алкил (1-20 C), необязательно содержащий эфирную (-O-) связь, арил, алкенил, циклоалкил, циклоалкенил или аралкил. Не все связи в полинуклеотиде должны быть идентичными. Описанное выше применимо ко всем полинуклеотидам, упомянутым в данном документе, включая РНК и ДНК.

"Клетка-хозяин" включает в себя отдельную клетку или клеточную культуру, которая может быть или которая была реципиентом вектора(ов) для включения полинуклеотидных вставок. Клетки-хозяева включают в себя потомство одной клетки-хозяина, причем потомство необязательно должен быть полностью идентично (морфологически или на уровне комплементарной геномной ДНК) исходной родительской клетке, в силу природной, случайной или преднамеренной мутации. Клетка-хозяин включает в себя клетки, трансфицированные *in vivo* полинуклеотидом(ами) по настоящему описанию.

"Носители", как используется в данном документе, включают фармацевтически приемлемые носители, наполнители или стабилизаторы, которые являются нетоксичными для клетки или млекопитающего, подвергаемых их воздействию, в используемых дозировках и концентрациях. Часто физиологически приемлемый носитель представляет собой водный рН-буферный раствор. Примеры физиологически приемлемых носителей включают буферные растворы, такие как фосфатный, цитратный и других органических кислот; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту; низкомолекулярные (менее чем около 10 остатков) полипептиды; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон; аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу или декстрины; хелатирующие агенты, такие как ЭДТК; сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; и/или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN[™], полиэтиленгликоль (ПЭГ) и PLURONICS[™].

Как используется в данном документе термин "апоптоз" относится к управляемому генами процессу внутриклеточного разрушения клетки. Апоптоз отличается от некроза; он включает цитоскелетарное разрушение, сжатие и уплотнение цитоплазмы, экспрессию фосфатидилсерина на внешней поверхности клеточной мембраны и образование пузырьков, что приводит к образованию связанных с мембраной везикул или апоптозных телец. Данный процесс также называется "программируемой гибелью клеток". Вовремя апоптоза возникают характерные такие проявления, как искривленные клеточные поверхности, уплотнение хроматина ядра, фрагментация хромосомной ДНК и наблюдается потеря функции митохондрий. Для выявления апоптоза можно применять различные известные методики, такие как окрашивание клеток аннексином V, пропидия йодидом, анализ фрагментации ДНК и YO-PRO-1 (Invitrogen). В некоторых вариантах реализации изобретения можно использовать окрашивание аннексином V и пропидия йодидом, и комбинированные процентные содержания популяций по окраске аннексином V+/PI+, аннексином V+/PI- и аннексином V-/PI+, считаются мертвыми клетками.

Термин "около", как используется в данном документе, относится к обычному диапазону ошибок соответствующего значения, хорошо известному специалисту в данной области техники. В данном документе ссылка на "около" в отношении значения или параметра включает (и описывает) варианты реализаций изобретения, которые касаются значения или параметра, по сути.

Как используется в данном документе и в прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа включают множественное число, если из контекста явно не следует иное. Например, упоминание "антитела" относится к одному антителу или множеству антител, например, в молярном количестве, и включает его эквиваленты, известные специалистам в данной области техники, и так далее.

Следует понимать, что аспект и варианты реализации изобретения по настоящему описанию, описанные в данном документе, включают аспекты и варианты реализации изобретения, определяемые терминами "содержащие", "состоящие из" и "состоящие по существу из".

Сортилиновые белки.

В одном аспекте изобретения в настоящем описании предложено выделенное (например, моноклональное) антитело, которое связывается с эпитопом в пределах белка сортина по настоящему описанию. Сортилиновые белки по настоящему описанию включают, без ограничения, белок сортин млекопитающего, белок сортин мыши и белок сортин крысы.

Сортилин называется по-разному как сортин 1, sort1, NT-рецептор массой 100 кДа, гликопротеин 95 (GP95), програнулиновый рецептор (PGRN-R) и нейротензиновый рецептор 3 (NT-3 или NTR-3). Сортилин представляет собой белок из 831 аминокислоты, который кодирует мембранный рецептор I типа. Известны различные гомологи сортина, включающие без ограничения, сортин человека, сортин крысы и сортин мыши. Аминокислотная последовательность сортина человека приведена ниже как SEQ ID NO: 1 (с ключевыми аминокислотными остатками, которые предположительно принимают участие в связывании програнулина, изображенным жирным шрифтом, и предполагаемый участок связывания pro-NGF, отмеченный подчеркиванием):

1020304050
 MERPWGAADG LSRWPHGLGL LLLQLLPPS TLSQDRLDAP PPPAAPLPRW
 60708090100
 SGPIGVSWGL RAAAAGGAFP RGGRRRSAP GEDEECGRVR DFVAKLANNT
 110120130140150
 HQHVFDDLRLG SVSLSWVGDS TGVILVLTTF HVPLVIMTFG QSKLYRSEDY
 160170180190200
 GKNFKDITDL INNTFIRTEF GMAIGPENSG KVVLTAEVSG GSRGGRIFRS
 210220230240250
 SDFAKNFVQT DLPFHPLTQM MYSPQNSDYL LALSTENGLW VSKNFGGKWE
 260270280290300
 EIHKAVCLAK WGSNTIFFT TYANGSCKAD LGALELWRTS DLGKSFKTIG
 310320330340350
 VKIYSFGLGG RFLFASVMAD KDTTRRIHVS TDQGDWMSMA QLPSVGQEQF
 360370380390400
 YSILAANDDM VFMHVDEPGD TGFGTIFTSD DRGIVYSKSL DRHLYTTTGG
 410420430440450
 ETDFTNVTSL RGVYITSVLS EDNSIQTMIT FDQGGRWTHL RKPENSECDA
 460470480490500
 TAKNKNECSL HIHASYSISQ KLVNPMAPLS EPNVAVGIVIA HGSVGDALISV
 510520530540550
 MVPDVYISDD GGYSWTKMLE GPHYTILDS GGIIVAIEHS SRPINVIKFS
 560570580590600
 TDEGQCWQTY TFTRDPIYFT GLASEPGARS MNISIWGFTE SFLTSQWVSY
 610620630640650
 TIDFKDILER NCEEKDYTIW LAHSTDPEDY EDGCILGYKE QFLRLRKSSV
 660670680690700
 CQNGRDYVVT KQPSICLCSL EDFLCDFGYR RPENDSKCVC QPELKGHDLE
 710720730740750
 FCLYGREEHL TTNGYRKIPG DKCQGGVNPV REVKDLKKKC TSNFLSPEKQ
 760770780790800
 NSKNSVPPII LAIVGLMLVT VVAGVLIVKK YVCGGRFLVH RYSVLQQHAE
 810820830
 ANGVDGVDAL DTASHTNKS GYHDDSDDLL E

В дополнение к этому, аминокислотная последовательность сортина мыши представлена на SEQ ID NO: 2:

MERPRGAADG	LLRWPLGLLL	LLQLLPAAV	GQDRLDAPPP	PAPPLLRWAG
PVGVSWSGLRA	AAPGGPVPR	GRWRRGAPAE	DQDCGRLPDF	IAKLNTNTHQ
HVFDDLSGSV	SLSWVGDSG	VILVLTTFQV	PLVIVSFGQS	KLYRSEDYGK
NFKDITNLIN	NTFIRTEFGM	AIGPENSGKV	ILTAEVSGGS	RGGRVFRSSD
FAKNFVQTDL	PFHPLTQMMY	SPQNSDYLLA	LSTENGLWVS	KNFGEKWEI
HKAVCLAKWG	PNNIIFTTH	VNGSCKADLG	ALELWRTSDL	GKTFKTIGVK
IYSFGLGGRF	LFASVMADKD	TTRRIHVSTD	QGDTWSMAQL	PSVGQEQQFYS
ILANEDMVF	MHVDEPGDTG	FGTIFTSDDR	GIVYSKSLDR	HLYTTTGGET
DFTNVTSLRG	VYITSTLSED	NSIQSMITFD	QGGRWEHLRK	PENSKCDATA
KNKNECSLHI	HASYSISQKL	NVPMAPLSEP	NAVGIIVAHG	SVGDAISVMV
PDVYISDDGG	YSWAKMLEGP	HYTILDSGG	IIVAIEHSNR	PINVIKFTSD
EGQCWQSYVF	TQEPYFTGL	ASEPGARSMN	ISIWGFTEF	ITRQWVSYTV
DFKDILERN	EEDDYTTWLA	HSTDPGDYKD	GCILGYKEQF	LRLRKSSVCQ
NGRDYVVAQ	PSVCPCSLD	FLCDFGYFRP	ENASECQECP	ELKGHELEFC
LYGKEEHLTT	NGYRKIPGDK	CQGGMNPAE	VKDLKKKCTS	NFLNPTKQNS
KSNSVPIILA	IVGLMLVTVV	AGVLIVKKYV	CGGRFLVHRY	SVLQQHAEAD
GVEALDSTSH	AKSGYHDDSD	EDLLE		

В дополнение к этому, аминокислотная последовательность сортина крысы представлена на SEQ ID NO: 3.

MERPRGAADG	LLRWPLGLLL	LLQLLPAAV	GQDRLDAPPP	PAPPLLRWAG
PVGVSWGLRA	AAPGGPVRA	GRWRRGAPAE	DQDCGRLPDF	IAKLTNNTHQ
HVFDDLSGSV	SLSWVG DSTG	VILVLTTFQV	PLVIVSFGQS	KLYRSEDY GK
NFKDITNLIN	NTFIRTEFGM	AIGPENSGKV	ILTAEVSGGS	RGGRVFRSSD
FAKNFVQTDL	PFHPLTQMMY	SPQNSDYLLA	LSTENGLWVS	KNFGEKWEEI
HKAVCLAKWG	PNNIIFFTTH	VNGSCKADLG	ALELWRTSDL	GKTFKTIGVK
IYSFGLGGRF	LFASVMADKD	TTRRIHVSTD	QGDTWSMAQL	PSVGQE QFYS
ILAANDDMVF	MHVDEPGDTG	FGTIFTSDDR	GIVYSKSLDR	HLYTTTGET
DFTNVTSLRG	VYITSTLSED	NSIQSMITFD	QGGRWEHLQK	PENSKCDATA
KNKNECSLHI	HASYSISQKL	NVPMAPLSEP	NAVGIIVAHG	SVGDAISVMV
PDVYISDDGG	YSWAKMLEGP	HYTILDSGG	IIVAIEHSNR	PINVIKFSTD
EGQCWQSYVF	SQEPVYFTGL	ASEPGARSMN	ISIWGFTESE	LTRQWVSYTI
DFKDILERN	EENDYTTWLA	HSTDPGDYKD	GCILGYKEQF	LRLRKSSVCQ
NGRDYVVAQ	PSICPCSLED	FLCDFGYFRP	ENASECVEQP	ELKGHELEFC
LYGKEEHLTT	NGYRKIPGDR	CQGGMNPARE	VKDLKKKCTS	NFLNPKKQNS
KSSSVPIILA	IVGLMLVTVV	AGVLIVKKYV	CGGRFLVHRY	SVLQQHAEAD
GVEALDTASH	AKSGYHDDSD	EDLLE		

В некоторых вариантах реализации изобретения сортилин представляет собой белок-предшественник, который включает сигнальный пептид. В некоторых вариантах реализации изобретения сортилин представляет собой зрелый белок. В некоторых вариантах изобретения зрелый белок сортилин не включает сигнальную последовательность. В некоторых вариантах изобретения зрелый белок сортилин экспрессируется на клетке.

Сортилиновые белки по настоящему описанию включают несколько доменов, включающих без ограничения, сигнальную последовательность, пропептид, домен полости, домен Vps10p, домен 10 CC, трансмембранный домен и цитоплазматический домен. В дополнение к этому, белки по настоящему описанию экспрессируются на высоких уровнях в ряде тканей, включая без ограничения, головной мозг, спинной мозг, сердечные и скелетные мышцы, щитовидную железу, плаценту и яички.

Сортилин представляет собой представителя семейства Vps10p рецепторов сортировки, которое также включает, без ограничения, родственный белку сортировки рецептор с повтором А-типа (SorLA), родственный сортилину рецептор 1, экспрессирующий CNS (SorCS1), родственный сортилину рецептор 2, экспрессирующий CNS (SorCS2), и родственный сортилину рецептор 3, экспрессирующий CNS (SorCS3). Участок полости сортилина выравнивается с каждым из двух доменов полости в дрожжевом Vps10p (домены Vps10p). Отличительным признаком домена Vps10p является аминоконцевой пропептид и карбоксиконцевой сегмент, который содержит 10 консервативных остатков (10CC). Другие рецепторы семейства Vps10p содержат домен Vps10p, который размещен на аминоконце, и содержит дополнительные эктодомены.

Семейство Vps10p рецепторов сортировки имеет разнообразные функции в пределах нервной системы и в других системах. Показано, что эти рецепторы являясь многофункциональными, связывают несколько различных лигандов, включая без ограничения, програнулин (PGRN), профактор роста нервов (Pro-NGF), фактор роста нервов (NGF), PCSK9, пронеуротрофины, нейротрофины, пронеуротрофин-3 (pro-NT3), пронеуротрофин-4/5, нейротрофический профактор головного мозга (Pro-BDNF), нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), нейротрофин-3 (NT3), нейротрофин-4/5, нейротензин, p75NTR, сортилиновый пропептид (Sort-pro), амилоидный белок-предшественник (APP), липопропротеино-вую липазу (LpL), аполипопротеины, аполипопротеин AV (APOA5), аполипопротеин E (APOE 2, 3, 4), связанный с рецептором белок (RAP) и элементы системы активатора плазминогена; и задействованы во внутриклеточную сортировку, эндоцитоз и передачу сигналов. Показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию опосредуют быстрый эндоцитоз липопротеиновой липазы, нейротензина и проформы фактора роста нервов; и нацеливают белки для прохождения сортировки из аппарата Гольджи в поздние эндосомы. Дополнительно показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию образуют комплекс с p75 на клеточной мембране и являются необходимыми для индуцируемой профактором роста нервов (NGF) нейрональной смерти. Недавно также было показано, что представители семейства рецепторов Vps10p взаимодействуют с представителями семейства нейротрофина, которые включают NGF, нейротрофический фактор головного мозга, нейротрофин-3 и нейротрофин-4/5 или продоменную форму нейротрофина (пронеуротрофин). Показано также, что сортилиновые белки по настоящему описанию связывают и управляют внеклеточными уровнями PCSK9, который обрекает рецептор липопротеинов низкой плотности на деградацию в лизосомах, приводя к повышенным уровням холестерина-ЛНП.

Соответственно, как используется в данном документе "сортилиновый" белок по настоящему опи-

санию включает, без ограничения, белок сортилин млекопитающего, белок сортилин человека, белок сортилин приматов, белок сортилин мыши и белок сортилин крысы. В дополнение к этому, антитела против сортилина по настоящему описанию могут связывать эпитоп в пределах одного или более из белка сортилина млекопитающего, белка сортилина человека, сортилина примата, белка сортилина мыши и сортилинового белка крысы.

Домены белка сортилина.

Сортилиновые белки по настоящему описанию содержат несколько доменов, таких как домен Vps10p, который содержит мотив Asp-бокс, десятилопастную бета-пропеллерную структуру и гидрофобную петлю, и домен 10 CC.

Как описано в данном документе, взаимодействия между сортилиновыми белками по настоящему описанию и пронеуротрофинами или нейротрофинами опосредованы доменом Vps10p, который содержит десятилопастную бета-пропеллерную структуру и мотив Asp-бокс. В некоторых вариантах реализации изобретения сортилиновые белки по настоящему описанию содержат домен Vps10p, который включает десятилопастную бета-пропеллерную структуру и расположен в пределах аминокислотных остатков 78-611 сортилина человека (SEQ ID NO: 1) или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 78-611 из SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения аминокислотные остатки 190-220 сортилина человека (SEQ ID NO: 1) или аминокислотные остатки сортилина млекопитающего, соответствующие аминокислотным остаткам 190-220 из SEQ ID NO: 1 расположены в пределах домена Vps10p.

Домены Vps10p по настоящему описанию могут включать мотив Asp-бокс. Как используется в данном документе, мотивы Asp-бокс имеют следующую последовательность: (S/T)-X-(D/N)-X-X-X-X-(W/F/Y) (SEQ ID NO: 4), или X-X-(S/T)-X-(D/N)-X-G-X-(T/S)-(W/F/Y)-X (SEQ ID NO: 5), где X представляет любую аминокислоту. В сортилине человека мотив Asp-бокс расположен на аминокислотных остатках 200-207 (SSDFAKNF (SEQ ID NO: 694)). Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения, мотив Asp-бокс расположен на аминокислотных остатках 200-207 сортилина человека (SEQ ID NO: 1) или аминокислотных остатках сортилина млекопитающего, который соответствует аминокислотным остаткам 200-207 из SEQ ID NO: 1.

Как описано в данном документе, взаимодействия между сортилиновыми белками по настоящему описанию и p75 опосредованы доменом 10CC гидрофобной петли домена Vps10p.

В некоторых вариантах реализации изобретения сортилиновые белки по настоящему описанию содержат домен 10CC, который расположен в пределах аминокислотных остатков 610-757 сортилина человека (SEQ ID NO: 1) или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 610-757 из SEQ ID NO: 1. В предпочтительных вариантах реализации изобретения аминокислотные остатки 592-593, 610-660 и/или 667-749 сортилина человека (SEQ ID NO: 1) или аминокислотные остатки сортилина млекопитающего, соответствующие аминокислотным остаткам 592-593, 610-660 и/или 667-749 из SEQ ID NO: 1 расположены в пределах домена 10CC сортилина.

В других вариантах реализации изобретения сортилиновые белки по настоящему описанию содержат гидрофобную петлю внутри домена Vps10p, который расположен в пределах аминокислотных остатков 130-141 сортилина человека (SEQ ID NO: 1) или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 130-141 из SEQ ID NO: 1.

Как будет понятно специалисту в данной области техники, начальные и конечные остатки доменов по настоящему описанию могут изменяться в зависимости от используемой программы компьютерного моделирования или используемого метода для определения домена.

Партнеры связывания сортилина.

Сортилиновые белки по настоящему описанию могут взаимодействовать с (например, связываться с) одним или более белков, включая, без ограничения, програнулиновый белок; нейротрофины, такие как пронеуротрофины, пронеуротрофин-3, нейротрофин-3, пронеуротрофин-4/5, нейротрофин-4/5, профактор роста нервов (Pro-NGF), фактор роста нервов (NGF), нейротрофический профактор головного мозга (Pro-BDNF) и нейротрофический фактор головного мозга (BDNF); нейротензин, p75, липопротеиновую липазу (LpL), аполипопротеин AV (APOA5), аполипопротеин E (APOE), амилоидный белок-предшественник, A-бета-пептид, PCSK9, p75NTR и связанный с рецептором белок (RAP).

Програнулин.

Показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию взаимодействуют (например, связываются) непосредственно с програнулином и опосредуют деградацию програнулина (например, Zheng, Y et al., (2011) PLoS ONE 6(6): e21023).

Програнулин разнообразно называется, как PGRN, проэпителин, гранулин-эпителиновый предшественник, клеточный фактор роста PC (рака простаты) (PCDGF) и акрогранин. Програнулин представляет собой белок из 593 аминокислоты, который кодирует секретируемый гликопротеин массой 68,5 кДа, который содержит 7,5 повторов меньших мотивов гранулина (эпителина), в диапазоне 6-25 кДа, которые можно протеолитически отщеплять от предшественника PGRN. Примеры продуктов расщепления програнулина включают, без ограничения, гранулин A/ эпителины 1, гранулин B эпителины 2, гранулин C, гранулины D, гранулин E, гранулин F, гранулин G и любые другие известные пептидные продукты, по-

лученные из програнулина.

Програнулин экспрессируется в широких пределах и в ненейрональных клетках связаны с разнообразными событиями, такими как регулирование клеточного цикла и подвижности клеток, заживление ран, воспаление, индукция факторов роста, таких как фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), и онкогенез. Програнулин также широко экспрессируется при раннем развитии нервной системы, но ограниченно экспрессируется при позднем развитии определенных нейрональных популяций, таких как кортикальные нейроны, пирамидальные нейроны гиппокампа и клетки Пуркинье. Тем не менее, роль програнулина для клеток нервной системы была непонятной, до того момента, когда у страдающих лобно-височной деменцией (FTD) были обнаружены мутации в гене програнулина на хромосоме 17. Впоследствии было показано, что програнулин способствует выживанию клеток нервной системы и увеличивает аксоновый отросток у кортикальных и моторных нейронах. Таким образом, хотя програнулин не является нейротрофином или представителем семейства нейротрофинов, его называют нейротрофическим фактором, благодаря его способности облегчать выживание клеток нервной системы.

Дополнительно было показано, что гаплонедостаточность програнулина (которая включает более 70 различных мутаций, таких как мутации с потерей функционирования), связаны с лобно-височной деменцией (FTD) с патологией TDP-43. Кроме того, уровни програнулина в плазме снижаются у пациентов с FTD-мутациями. Мутации програнулина отвечают за 25% наследственной FTD. В дополнение к этому, низкие уровни програнулина обнаружены у некоторых пациентов с FTD без мутаций програнулиновых мутаций, и уровни програнулина изменены при болезни Альцгеймера и ALS. Таким образом, предполагают, что програнулин в целом может быть вовлечен в развитие дегенеративных заболеваний.

Было показано, что полная потеря програнулина приводит к фенотипу нейронального липоидного фусциноза (NPL). Соответственно, предполагают, что индивиды с различными нарушениями хранения в лизосомах могут отвечать на увеличенные уровни програнулина. Програнулин экспрессируется в широких пределах, а в центральной нервной системе продуцируется нейронами и микроглиями. Полагают также, что програнулин играет противовоспалительную роль в макрофагах и микроглиях, и способствующую выживанию роль в нейронах.

Соответственно, антитела против сортилина по настоящему описанию, которые увеличивают уровни програнулина, уменьшают уровни сортилина на клеточной поверхности и/или блокируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином, будут полезны для предупреждения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с уменьшенными уровнями экспрессии програнулина и/или его активностью, гибелью клеток (например, гибелью клеток нервной системы), лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией, эпилептическими припадками, дистрофией сетчатки, травматическим повреждением мозга, повреждением спинного мозга, длительной депрессией, атеросклеротическими заболеваниями сосудов, нежелательными симптомами естественного старения, деменцией, смешанной деменцией, болезнью Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалией, боковым амиотрофическим склерозом, болезнью Хантингтона, таупатией, инсультом, острой травмой, хронической травмой, волчанкой, острым и хроническим колитом, болезнью Крона, воспалительным заболеванием кишечника, неспецифическим язвенным колитом, малярией, эссенциальным тремором, волчанкой центральной нервной системы, болезнью Бехчета, болезнью Паркинсона, деменцией с тельцами Леви, множественной системной атрофией, дегенерацией межпозвоночных дисков, синдромом Шая-Дрейджера, прогрессирующим супрануклеарным параличом, кортикальной базальной ганглионарной дегенерацией, острым рассеянным энцефаломиелитом, связанными с гранулематозом нарушениями, саркоидозом, болезнями старения, возрастной макулярной дегенерацией, глаукомой, пигментным ретинитом, дегенерацией сетчатки, инфекцией дыхательных путей, сепсисом, глазной инфекцией, системной инфекцией, воспалительными нарушениями, артритом, рассеянным склерозом, нарушениями метаболизма, ожирением, резистентностью к инсулину, диабетом 2 типа, повреждениями тканей или сосудов, ранением или одним или более нежелательных симптомов естественного старения. В дополнение к этому, антитела против сортилина по настоящему описанию, которые увеличивают уровни програнулина, уменьшают уровни сортилина на клеточной поверхности и/или блокируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином, могут ингибировать взаимодействие между сортилином и програнулином, могут индуцировать одну или более активностей програнулина, могут снижать эндосомальную интернализацию програнулина или его фрагмента, и/или могут увеличивать эффективную концентрацию програнулина.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые увеличивают уровни програнулина, уменьшают уровни сортилина на клеточной поверхности и/или блокируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином, связываются с одной или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или

740-749 из SEQ ID NO: 1. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые увеличивают уровни програнулина, уменьшают уровни сортилина на клеточной поверхности и/или блокируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином, могут связывать одну или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют одному или более аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1.

Нейротрофины.

Показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию взаимодействуют (например, связываются) непосредственно с пронеуротрофинами (например, pro-NGF), которые содержат продомен и обычно являются проапоптозными (например, Andersen, OS et al. (2010) *The Journal of Biological Chemistry*, 285, 12210-12222). Такие предшественники pro-NGF высвобождаются во время стресса, и как обнаружено, сортилин вовлекается в регулирование их высвобождения, а также связывания на воспринимающей клетке. Связывание может быть опосредовано через линейный эпитоп на сортилине, который соответствует аминокислотным остаткам 163-174 из SEQ ID NO: 1.

Нейротрофины представляют собой семейство димерных пептидных белков-гормонов, которые индуцируют выживание, развитие и функционирование клеток нервной системы. Нейротрофины принадлежат к классу факторов роста, которые являются секретируемыми белками, способными к передаче сигнала конкретным клеткам для выживания, дифференцировки или роста. Факторы роста, такие как нейротрофины, которые способствуют выживанию нейронов, известны как нейротрофические факторы. Нейротрофические факторы секретируются целевыми тканями и действуют путем предотвращения инициации программируемой гибели клеток связанного нейрона. Нейротрофины также могут индуцировать дифференцировку клеток-предшественников для образования нейронов. Нейротрофин по настоящему описанию синтезируются внутри клеток как белки-предшественники массой 30-35 кДа, содержащие сигнальный пептид и сайт гликозилирования. Во время процессинга белки-предшественники также расщепляются по двухосновному сайту расщепления кальций-зависимой сериновой протеазой furin и другими представителями семейства конвертаз прогормонов внутри аппарата Гольджи. N-концевая часть этого расщепления представляет собой зрелый нейротрофин из 118-120 аминокислот и биологически активный C-концевой продукт массой 12-14 кДа (Seidah et al, *Biochem. J.* (1996) 314: 951-960). Как используется в данном документе, "нейротрофин" и "нейротрофический фактор" могут применяться взаимозаменяемо. Нейротрофин по настоящему описанию включает, без ограничения, родственный по структуре фактор роста нервов (NGF), нейротрофический фактор (BDNF), нейротрофин-3 (NT-3) и нейротрофин-4 (NT-4). Как используется в данном документе "пронеуротрофин" может относиться к любому пропептиду семейства нейротрофина, включая без ограничения, pro-NGF, pro-BDNF, pro-neurotrophin-3 и pro-neurotrophin-4/5.

Было показано, что пронеуротрофины играют роль развития патологии при старении, эпилептических припадках, дистрофии сетчатки, травматическом повреждении мозга, повреждении спинного мозга и длительной депрессии (например, Beattie, MS et al., (2002) *Neuron* 36, 375-386; Volosin, M et al. (2006) *J. Neurosci.* 26, 7756-7766; Nykjaer, A et al., (2005) *Curr. Opin. Neurobiol.* 15, 49 -57; Jansen, P et al., (2007) *Nat. Neurosci.* 10, 1449-1457; Volosin, M et al., (2008) *J. Neurosci.* 28, 9870 -9879; Fahnstock, M et al., (2001) *Mol. Cell Neurosci.* 18, 210-220; Nakamura, K et al., (2007) *Cell Death. Differ.* 14, 1552-1554; Yune, T et al. (2007) *J. Neurosci.* 27, 7751-7761; Arnett, MG et al., (2007) *Brain Res.* 1183, 32-42; Wei, Y et al., (2007) *Neurosci. Lett.* 429, 169-174; Provenzano, MJ et al., (2008) *Laryngoscope* 118, 87-93; и Pang, PT et al., (2004) *Science* 306, 487-491).

Фактор роста нервов (NGF) представляет собой небольшой секретируемый белок, который гомодимеризуется и включается в комплекс большего размера. NGF обладает стимулирующей рост нервной ткани активностью, а комплекс вовлекается в рост, поддержание, выживание и дифференцировку симпатических и определенных сенсорных нейронов. Мутации в NGF связаны с наследственной сенсорной и автономной нейропатией, 5 типа (HSAN5) и дисрегуляцией экспрессии NGF, связанной с аллергическим ринитом. Безотносительно к какой-либо теории можно считать, что pro-NGF может индуцировать апоптоз и длительную депрессию.

Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) представляет собой секретируемый белок, индуцируемый кортикальными нейронами и необходимый для выживания стриарных нейронов в головном мозге. Экспрессия BDNF понижена у пациентов с болезнью Альцгеймера, и с болезнью Хаттингтона. BDNF может играть роль в регулировании ответной реакции на стресс и биологию расстройств настроения. Для этого гена были определены множество вариантов транскриптов, кодирующих различные изо-

формы. Безотносительно к какой-либо теории можно считать, что pro-BDNF может индуцировать апоптоз и длительную депрессию.

Нейротрофин-3 представляет собой секретируемый белок, необходимый для выживания и функционирования множества периферических нейронов и нейронов центральной нервной системы. Вариант гена нейротрофина-3 связывают с тяжелыми формами шизофрении, а пронейротрофин-3 (pro-NT3) индуцирует гибель симпатических нейронов.

Соответственно, антитела против сортилина по настоящему описанию могут также ингибировать (например, блокировать) взаимодействие между сортилином и нейротрофинами по настоящему описанию (например, пронейротрофин). Такие антитела могут быть полезны для предупреждения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с уменьшенными уровнями экспрессии нейротрофина и/или его активностью, гибелью клеток (например, гибелью клеток нервной системы), лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией, эпилептическими припадками, дистрофией сетчатки, травматическим повреждением мозга, повреждением спинного мозга, длительной депрессией, атеросклеротическими заболеваниями сосудов, нежелательными симптомами естественного старения, деменцией, смешанной деменцией, болезнью Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалией, боковым амиотрофическим склерозом, болезнью Хантингтона, таупатией, инсультом, острой травмой, хронической травмой, волчанкой, острым и хроническим колитом, болезнью Крона, воспалительным заболеванием кишечника, неспецифическим язвенным колитом, малярией, эссенциальным тремором, волчанкой центральной нервной системы, болезнью Бехчета, болезнью Паркинсона, деменцией с тельцами Леви, множественной системной атрофией, дегенерацией межпозвоночных дисков, синдромом Шая-Дрейджера, прогрессирующим супрануклеарным параличом, кортикальной базальной ганглионарной дегенерацией, острым рассеянным энцефаломиелитом, связанными с гранулематозом нарушениями, саркоидозом, болезнями старения, возрастной макулярной дегенерацией, глаукомой, пигментным ретинитом, дегенерацией сетчатки, инфекцией дыхательных путей, сепсисом, глазной инфекцией, системной инфекцией, воспалительными нарушениями, артритом, рассеянным склерозом, нарушениями метаболизма, ожирением, резистентностью к инсулину, диабетом 2 типа, повреждениями тканей или сосудов, ранением или одним или более нежелательных симптомов естественного старения. Антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и нейротрофином по настоящему описанию (например, пронейротрофины), также могут предотвращать гибель клеток (например, апоптоз), индуцированную пронейротрофином.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и нейротрофином по настоящему описанию, связывают одну или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 из SEQ ID NO: 1. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и нейротрофином по настоящему описанию, связывают одну или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют одному или более аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1.

Нейротензин.

Показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию взаимодействуют (например, связываются) с нейротензином в пределах бета-пропеллерной структуры сортилина, и показан важный контакт по серину 283 сортилина человека (например, Quistgaard, EM, et al. (2009) Nature Structural and Molecular Biology, 16 p96-98). Было также показано, что этот участок является важным для связывания програнулина. Сайт связывания нейротензина находится внутри расположенного в центре тоннеля бета-пропеллерной структуры сортилина, тогда как домен пронейротрофина находится на поверхности бета-пропеллерной структуры. Связывание пронейротрофина с сортилином частично ингибируется нейротензином, так как участки связывания находятся не очень далеко.

Нейротензин представляет собой нейропептид из 13 аминокислот, который считается принимает участие в регулировании лютеинизирующего гормона и высвобождения пролактина. Показано, что ней-

ротензин проявляет существенное взаимодействие с дофаминергической системой. Нейротензин синтезируется как часть белка-предшественника из 169-170 аминокислот, которые также содержат родственный нейропептид - нейромедин. Кодирующие пептид домены расположены в тандеме около карбоксильного терминального конца предшественника и связаны, и отделены сопряженными сайтами процессинга основных аминокислот (лизин-аргинин). Нейротензин имеет существенное сходство в своих 6 С-концевых аминокислотных остатках с некоторыми другими нейропептидами, включая нейромедин N. С-концевой участок отвечает за полную биологическую активность, тогда как N-концевой участок играет модуляторную роль. В центральной нервной системе, нейротензин обладает двойной функцией нейромодулятора передачи дофамина и гормона секреции передней доли гипофиза. Показаны также сильные гипотермические и анальгезирующие влияния на головной мозг. Предполагается участие нейротенина в патофизиологии шизофрении, болезни Хантингтона и Паркинсона. Обнаружено также, что нейротензин обеспечивает нейропротекцию в экспериментальных моделях церебральной ишемии.

Соответственно, антитела против сортилина по настоящему описанию могут также ингибировать (например, блокировать) взаимодействие между сортилином и нейротенином. Такие антитела могут быть полезны для предупреждения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с уменьшенными уровнями экспрессии нейротенина и/или его активностью, гибелью клеток (например, гибелью клеток нервной системы), лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией, эпилептическими припадками, дистрофией сетчатки, травматическим повреждением мозга, повреждением спинного мозга, длительной депрессией, атеросклеротическими заболеваниями сосудов или одним или более нежелательных симптомов естественного старения.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и нейротенином, связывают одну или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 из SEQ ID NO: 1. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и нейротенином, связывают одну или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют одному или более аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1.

Рецептор фактора роста нервов с низкой аффинностью (p75).

Показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию взаимодействуют (например, связываются) с низкой аффинностью с рецептором (p75) фактора роста нервов (NGF) в пределах домена 10СС сортилина или гидрофобной петли домена Vps10p сортилина. Как описано в данном документе, сортилиновые белки по настоящему описанию могут функционировать как корецептор с p75 для пронеуротрофинов, которые индуцируют передачу сигнала апоптоза.

Рецептор NGF с низкой аффинностью по-разному называется p75, p75 нейротрофиновым рецептором, рецептором NGF p75, p75^{NTR}, LNGFR, NGFR, CD271, Gp80-LNGFR и TNFRSF16, и p75^{NTR}. P75 представляет собой один из двух типов рецепторов для нейротрофина по настоящему описанию. Показано, что P75 связывает и служит в качестве "приемника" нейротрофинов. Однако было также показано, что в отсутствие коэкспрессированного TrkA (другой тип рецептора нейротрофинов), p75 может индуцировать в клетках клеточную гибель (например, апоптоз). По существу и без привязки к какой-либо теории считают, что блокирование взаимодействия между сортилином и p75 снижает продукцию сигнала p75 клеточной гибели, зависящего от гибели иммуногенных клеток.

Таким образом, ингибирующее взаимодействие (например, связывание) сортилина с p75 будет уменьшать эффективную концентрацию пронеуротрофинов и, таким образом, возникающую гибель клеток нервной системы.

Соответственно, антитела против сортилина по настоящему описанию могут также ингибировать (например, блокировать) взаимодействие между сортилином и p75. Такие антитела могут быть полезны для предупреждения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с уменьшенными уровнями экспрессии p75 и/или его активностью, гибелью клеток (например, гибелью клеток нервной системы), лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменции,

ей, эпилептическими припадками, дистрофией сетчатки, травматическим повреждением мозга, повреждением спинного мозга, длительной депрессией, атеросклеротическими заболеваниями сосудов или одним или более нежелательных симптомов естественного старения. Антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и p75 также могут уменьшать эффективные концентрации пронеуротрофинов, требуемые для передачи апоптозного сигнала p75, снижать интернализацию p75 или его фрагментов, обеспечивать поступление в эндосомы, снижать продукцию в клетках сигнала клеточной гибели p75, зависящего от гибели иммунных клеток и предотвращать клеточную гибель (например, апоптоз), индуцированную p75.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и p75, связывают одну или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 из SEQ ID NO: 1. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и p75, связывают одну или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют одному или более аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1.

Амилоидный белок-предшественник (APP).

Показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию взаимодействуют (например, связываются) с амилоидным белком-предшественником. Как описано в данном документе, сортилиновые белки по настоящему описанию могут функционировать в отношении изменения субклеточной локализации APP и увеличения его процессинга в А-бета-пептиды и внутриклеточные фрагменты, которые связаны с болезнью Альцгеймера.

Амилоидный белок-предшественник (APP) представляет собой интегральный мембранный белок, который экспрессируется во многих тканях и концентрируется в синапсах нейронов. Его основная функция не известна, тем не менее предполагают его участие в качестве регулятора образования синапсов, пластичности нервной ткани и экспортирования железа. APP лучше всего известен как молекула-предшественник, протеолиз которой образует бета-амилоид (A β), пептид из от 37 до 49 аминокислот, амилоидная фибриллярная форма которого является основным компонентом амилоидных бляшек в головном мозге у пациентов с болезнью Альцгеймера.

Таким образом, ингибирующие взаимодействия (например, связывание) сортилина с APP будет увеличивать эффективную концентрацию пронеуротрофинов. Более того, блокирование взаимодействия между сортилином и APP может приводить к уменьшенной эндосомной интернализации APP и его процессинга в А-бета-пептид.

Соответственно, антитела против сортилина по настоящему описанию могут также ингибировать (например, блокировать) взаимодействие между сортилином и APP. Такие антитела могут быть полезны для предупреждения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с аномальными уровнями процессинга экспрессии APP и/или его активностью, гибелью клеток (например, гибелью клеток нервной системы), лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией, эпилептическими припадками, дистрофией сетчатки, травматическим повреждением мозга, повреждением спинного мозга, длительной депрессией, атеросклеротическими заболеваниями сосудов или одним или более нежелательных симптомов естественного старения.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и APP, связывают одну или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 из SEQ ID NO: 1. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему

описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и APP, связывают одну или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют одному или более аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1.

Липопротеиновая липаза.

Показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию взаимодействуют (например, связываются) с липопротеиновой липазой (LpL). Как описано в данном документе, сортилиновые белки по настоящему описанию связывают и модифицируют деградацию LpL.

Липопротеиновая липаза представляет собой секретируемый фермент, который обладает активностью ЕС 3. 1. 1. 34. Липопротеиновая липаза представляет собой представителя семейства генов липаз, которое включает панкреатическую липазу, липазу печени и липазу эндотелия. Она является водорастворимым ферментом, который гидролизует триглицериды в таких липопротеинах, как обнаруженные в хиломикронах, и липопротеинах очень низкой плотности (VLDL) в две свободные жирные кислоты и одну моноацилглицеридную молекулу. Липопротеиновая липаза также вовлечена в стимулирование клеточного поглощения остатков хиломикронов, богатых холестерином липопротеинов, и свободных жирных кислот. Липопротеиновая липаза присоединяется к поверхности просвета эндотелиальных клеток в капиллярах и наиболее распространена в адипозной, сердечной ткани и ткани скелетных мышц. Липопротеиновая липаза секретируется из паренхимальных клеток в виде гликозилированного гомодимера, а затем транслоцируется во внеклеточный матрикс и через эндотелиальные клетки в просвет капилляров.

Соответственно, антитела против сортилина по настоящему описанию могут также ингибировать (например, блокировать) взаимодействие между сортилином и липопротеиновой липазой. Такие антитела могут быть полезны для предупреждения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с уменьшенными уровнями экспрессии липопротеиновой липазы и/или ее активностью, гибелью клеток (например, гибелью клеток нервной системы), лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией и/или атеросклеротическими заболеваниями сосудов.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и липопротеиновой липазой, связывают одну или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 из SEQ ID NO: 1. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и липопротеиновой липазой, связывают одну или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют одному или более аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1.

Аполипопротеин AV.

Показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию взаимодействуют (например, связываются) с аполипопротеином AV (APOA5). Как описано в данном документе, сортилиновые белки по настоящему описанию связывают и модифицируют деградацию APOA5.

Аполипопротеин AV называется по-разному как аполипопротеин A-V, APOA5, APOAV и RAP3. Аполипопротеин AV является важным регулятором уровней триглицеридов в плазме, что представляет собой главный фактор риска для атеросклеротического заболевания сосудов, таких как ишемическая болезнь сердца. Он является компонентом нескольких фракций липопротеинов, включающих VLDL, HDL и хиломикроны. Аполипопротеин AV может оказывать влияние на метаболизм липопротеинов путем взаимодействия с рецепторами семейства генов LDL-R.

Соответственно, антитела против сортилина по настоящему описанию могут также ингибировать (например, блокировать) взаимодействие между сортилином и апополипротеином AV. Такие антитела могут быть полезны для предупреждения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с аномальными уровнями экспрессии апополипротеина AV и/или его активностью, гибелью клеток (например, гибелью клеток нервной системы), лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией и/или атеросклеротическими заболеваниями сосудов.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и апополипротеином AV, связывают одну или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 из SEQ ID NO: 1. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и апополипротеином AV, связывают одну или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют одному или более аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1.

Аполипопротеин E.

Показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию взаимодействуют (например, связываются) с апополипротеином E (APOE2, APOE3, APOE4). Как описано в данном документе, сортилиновые белки по настоящему описанию связывают и модифицируют деградацию и транспорт APOE, а также агентов, которые переносит APOE, таких как А-бета-пептид.

Аполипопротеин E (APOE) представляет собой класс апополипротеинов, обнаруженных в хиломикроне и липопротеине промежуточной плотности (IDL), которые являются необходимыми для нормального катаболизма липопротеиновый заместителей, богатых триглицеридами. В периферических тканях APOE главным образом продуцируется печенью и макрофагами, и опосредует метаболизм холестерина, зависимым от типа изоформы образом. В центральной нервной системе APOE в основном продуцируется астроцитами, и транспортирует холестерин в нейроны посредством рецепторов ApoE, которые являются представителями семейства генов рецепторов липопротеинов низкой плотности. Варианты APOE связывают с повышенным риском развития болезни Альцгеймера и сердечнососудистых нарушений, а также повреждения гематоэнцефалического барьера. Показано, что APOE транспортирует А-бета-пептид в нейроны посредством сортилинового рецептора.

Соответственно, антитела против сортилина по настоящему описанию могут также ингибировать (например, блокировать) взаимодействие между сортилином и апополипротеином E. Такие антитела могут быть полезны для предупреждения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с аномальными уровнями экспрессии апополипротеина E и/или его активностью, гибелью клеток (например, гибелью клеток нервной системы), лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией и/или атеросклеротическими заболеваниями сосудов.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и апополипротеином E, связывают одну или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 из SEQ ID NO: 1. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и апополипротеином E, связывают одну или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или аминокислотных остатков сорти-

лина млекопитающего, которые соответствуют одному или более аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1.

Связанный с рецептором белок.

Показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию взаимодействуют (например, связываются) с белком, связанным с рецептором (RAP).

Связанный с рецептором белок называется по-разному как RAP, белок 1, ассоциированный с белком, родственным рецептору липопротеинов низкой плотности, LRPAP1, A2MRAP, A2RAP, HBP44 и MRAP. Связанный с рецептором белок представляет собой белок-шаперон, вовлеченный в перенос определенных представителей семейства рецепторов LDL, включая без ограничения, LRP1 и LRP2. Связанный с рецептором белок представляет собой гликопротеин, который связывается с рецептором альфа-2-макроглобулина, а также с другим представителем семейства рецепторов липопротеинов низкой плотности. Он действует путем ингибирования связывания всех известных лигандов для таких рецепторов, и может предотвращать агрегацию и деградацию рецепторов в эндоплазматическом ретикулеуме, тем самым действуя как молекулярный шаперон. Связанный с рецептором белок может также находиться под отрицательным контролем кальмодулина.

Соответственно, антитела против сортилина по настоящему описанию могут также ингибировать (например, блокировать) взаимодействие между сортилином и RAP. Такие антитела могут быть полезны для предупреждения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с уменьшенными уровнями экспрессии RAP и/или ее активностью, гибелью клеток (например, гибелью клеток нервной системы), лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией и/или атеросклеротическими заболеваниями сосудов.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и RAP, связывают одну или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 из SEQ ID NO: 1. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и RAP, связывают одну или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют одному или более аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1.

PCSK9.

Показано, что сортилиновые белки по настоящему описанию взаимодействуют (например, связываются) с пропротеиновой конвертазой субтилизин/кексин 9 (PCSK9), и секретируют ее в кровотоке.

PCSK9 представляет собой представителя подсемейства протеазы К секреторных протеаз. PCSK9 играет основную роль в гомеостазе холестерина. Она связывается с липопротеиновым рецептором низкой плотности (LDLR), индуцируя деградацию LDLR и снижение способности LDLR удалять холестерин, что ведет к гиперхолестеремии.

Соответственно, антитела против сортилина по настоящему описанию могут также ингибировать (например, блокировать) взаимодействие между сортилином и PCSK9, и секрецию PCSK9. Такие антитела могут быть полезны для предупреждения, снижения риска или лечения патологических состояний и/или заболеваний, связанных с увеличенными уровнями экспрессии PCSK9 и/или ее активностью, гибелью клеток (например, гибелью клеток нервной системы), лобно-височной деменцией, болезнью Альцгеймера, сосудистой деменцией и/или атеросклеротическими заболеваниями сосудов.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и PCSK9, связывают одну или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в

пределах аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют аминокислотным остаткам 131-138, 175-181, 190-220, 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207, 203-207, 207-231, 207-227, 212-221, 233-243, 237-247, 237-260, 297-317, 314-338, 367-391, 429-443, 623-632 и/или 740-749 из SEQ ID NO: 1. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют (например, блокируют) взаимодействие между сортилином и PCSK9, связывают одну или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или аминокислотных остатков сортилина млекопитающего, которые соответствуют одному или более аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1.

Антитела против сортилина.

Антитела против сортилина по настоящему описанию могут ингибировать одну или более активностей белка сортилина, включающие, но не ограничивающиеся ими, увеличение уровней програнулина (например, внеклеточные уровни програнулина и/или клеточные уровни програнулина), уменьшение клеточных уровней сортилина (например, уровней сортилина на поверхности клеток, внутриклеточных уровней сортилина и/или общих уровней сортилина), ингибирование взаимодействия (например, связывания) с програнулином и/или ингибирование взаимодействия (например, связывания) с одним или более из пронеуротрофинов по настоящему описанию (пронеуротрофин-3, пронеуротрофин-4/5, pro-NGF, pro-BDNF и т.д.), нейротрофинов по настоящему описанию (нейротрофин-3, нейротрофин-4/5, NGF, BDNF, т.д.), нейротензином, р75, сортилиновым пропептидом (Sort-pro), амилоидным белком-предшественником (APP), А-бета-пептидом, липопротеиновой липазой (LpL), аполипотеином AV (APOA5), аполипотеином E (APOE) и связанным с рецептором белком (RAP), уменьшение секретирования PCSK9, уменьшение продукции бета-амилоидного пептида.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию увеличивают внеклеточные уровни програнулина и/или клеточные уровни програнулина *in vitro* или *in vivo* (например, в головном мозге, крови и/или периферических органах индивида). Как используется в данном документе, антитело против сортилина увеличивает внеклеточные уровни програнулина, если оно индуцирует увеличение на 20% или более внеклеточных уровней програнулина при измерении любым анализом *in vitro* на основе клеток или анализом на основе тканей (такого как на основе ткани головного мозга), описанного в данном документе или известного в данной области техники. Как используется в данном документе, антитело против сортилина увеличивает клеточные уровни програнулина, если оно индуцирует увеличение на 20% или более клеточных уровней програнулина при измерении любым анализом *in vitro* на основе клеток или анализа на основе тканей (такого как на основе ткани головного мозга), описанного в данном документе или известного в данной области техники.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию уменьшают клеточные уровни сортилина *in vitro* или *in vivo* (например, в головном мозге и/или периферических органах индивида). В некоторых вариантах реализации изобретения уменьшение клеточных уровней сортилина включает уменьшение уровней сортилина на клеточной поверхности. Как используется в данном документе, антитело против сортилина уменьшает уровни сортилина на клеточной поверхности, если оно индуцирует уменьшение на 20% или более уровней сортилина на клеточной поверхности при измерении любым анализом *in vitro* на основе клеток или подходящей моделью *in vivo*, описанными в данном документе или известными в данной области техники. В некоторых вариантах реализации изобретения уменьшение клеточных уровней сортилина включает уменьшение внутриклеточных уровней сортилина. Как используется в данном документе, антитело против сортилина уменьшает внутриклеточные уровни сортилина, если оно индуцирует уменьшение на 20% или более внутриклеточных уровней сортилина при измерении любым анализом *in vitro* на основе клеток или подходящей моделью *in vivo*, описанными в данном документе или известными в данной области техники. В некоторых вариантах реализации изобретения уменьшение клеточных уровней сортилина включает уменьшение общих уровней сортилина. Как используется в данном документе, антитело против сортилина уменьшает общие уровни сортилина, если оно индуцирует уменьшение на 20% или более общих уровней сортилина при измерении любым анализом *in vitro* на основе клеток или подходящей моделью *in vivo*, описанными в данном документе или известными в данной области техники.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию увеличивают уровни програнулина и/или уменьшение клеточных уровней сортилина без ингибирования взаимодействия (например, связывания) между сортилином и програнулином. Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию не ингибируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином. Как исполь-

зуется в данном документе, антитело против сортилина не ингибирует взаимодействие (например, связывание) между сортилином и програнулином, если оно уменьшает связывание програнулина с сортилином на 20% или менее при насыщающих концентрациях антитела (например, 67 нМ) в любом анализе *in vitro* или анализе в культуре на основе клеток, описанных или известных в данной области техники.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию могут уменьшать клеточные уровни сортилина (например, уровни сортилина на клеточной поверхности, внутриклеточные уровни сортилина и/или общие уровни сортилина) путем индукции деградации сортилина. Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию индуцируют деградацию сортилина.

Как используется в данном документе, уровни програнулина могут относиться к уровням экспрессии кодирующего програнулин гена; уровням экспрессии одного или более транскриптов, кодирующих програнулин; уровням экспрессии програнулинового белка и/или количеству програнулинового белка, секретируемого из клеток и/или присутствующего в пределах клетки. Как используется в данном документе, уровни сортилина могут относиться к уровням экспрессии кодирующего сортилин гена; уровням экспрессии одного или более транскриптов, кодирующих сортилин; уровням экспрессии белка сортилина и/или количеству белка сортилина, присутствующего в пределах клеточной поверхности. Для определения уровней програнулина и сортилина можно использовать любые методы, известные в данной области техники для измерения уровней генной экспрессии, транскрипции, трансляции и/или избытка или локализации белков.

Дополнительно, антитела против сортилина по настоящему описанию могут использоваться для предупреждения, снижения риска или лечения гибели клеток (например, гибели клеток нервной системы), лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических заболеваний сосудов, нежелательных симптомов естественного старения, деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, дегенеративного заболевания межпозвоночных дисков, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего супрануклеарного паралича, кортикальной базальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, связанными с гранулематозом нарушениями, саркоидозом, болезнью старения, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, воспалительных нарушений, артрита, рассеянного склероза, нарушения метаболизма, ожирения, резистентности к инсулину, диабета 2 типа, повреждения тканей или сосудов, ранения и/или одного или более нежелательных симптомов естественного старения. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию представляют собой моноклональные антитела.

В определенных аспектах изобретения по настоящему описанию предложены антитела против сортилина, которые связывают прерывистый сортилиновый эпитоп. В некоторых вариантах реализации изобретения прерывистый сортилиновый эпитоп содержит два или более пептидов, три или более пептидов, четыре или более пептидов, пять или более пептидов, шесть или более пептидов, семь или более пептидов, восемь или более пептидов, девять или более пептидов, или 10 или более пептидов. В некоторых вариантах реализации изобретения каждый из пептидов содержит пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более, 14 или более, 15 или более, 16 или более, 17 или более, 18 или более, 19 или более, 20 или более, 21 или более, 22 или более, 23 или более, 24 или более, 25 или более, 26 или более, 27 или более, 28 или более, 29 или более, или 30 или более аминокислотных остатков аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1; или пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, 10 или более, 11 или более, 12 или более, 13 или более, 14 или более, 15 или более, 16 или более, 17 или более, 18 или более, 19 или более, 20 или более, 21 или более, 22 или более, 23 или более, 24 или более, 25 или более, 26 или более, 27 или более, 28 или более, 29 или более, или 30 или более аминокислотных остатков на белке сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1. В других аспектах изобретения по настоящему описанию предложены антитела против сортилина, которые связываются с прерывистым эпитопом сортилина.

В определенных аспектах изобретения по настоящему описанию предложены антитела против сортилина, которые связываются с одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 131-138 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков на сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 131-138 из SEQ ID NO: 1; одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 175-181 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков на сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 175-181 из SEQ ID NO: 1; одной или более аминокислотами в пределах аминокислот-

[illegible]

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связываются с одной или более аминокислот в пределах аминокислотных остатков 190-220 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков на сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 190-220 из SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина связываются с одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207 и/или 203-207 сортилина человека; или в пределах аминокислотных остатков на сортилине млекопитающего, соответствующего аминокислотным остаткам 199-220, 190-211, 196-207, 196-199, 200-207 и/или 203-207 из SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина связываются с одной или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595, и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или из аминокислотных остатков на сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1. В других аспектах по настоящему описанию предложены антитела против сортилина, которые связываются с эпитопом, содержащим аминокислотные остатки (S/T)-X-(D/N)-X-X-X-X-(W/F/Y), где X представляет любую аминокислоту (SEQ ID NO: 4).

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию увеличивают внеклеточный уровень програнулина, увеличивают клеточные уровни програнулина

тела против сортилина также ингибируют продукцию бета-амилоидного пептида. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина также ингибируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и профактором роста нервов (pro-NGF). В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина также ингибируют взаимодействие (например, связывание) между сортилином и одним или более белков из группы, выбранной из пронеуротрофина, нейротрофина, фактора роста нервов (NGF), нейротрофического профактора головного мозга (pro-BDNF), нейротрофического фактора головного мозга (BDNF), пронеуротрофина-3, нейротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, нейротрофина-4/5, нейротензина, нейротензина, p75, сортилинового пропептида (Sort-pro), амилоидного белка-предшественника (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9 и связанного с рецептором белка (RAP).

В определенных аспектах изобретения по настоящему описанию предложены антитела против сортилина, которые связываются с одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 130-141 или 592-757 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или в пределах аминокислотных остатков на сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам 130-141 или 592-757 из SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина связываются с одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 610-666, 592-593 и/или 667-749 сортилина человека; или в пределах аминокислотных остатков на сортилине млекопитающего, соответствующего аминокислотным остаткам 610-666, 592-593 и/или 667-749 из SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина связываются с одной или более аминокислотами в пределах аминокислотных остатков 130-141 сортилина человека; или в пределах аминокислотных остатков на сортилине млекопитающего, соответствующего аминокислотным остаткам 130-141 из SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина связываются с одной или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595, и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или из аминокислотных остатков на сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1. В одном варианте реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и одним или более белков, выбранных из програнулина, пронеуротрофина, нейротрофина, пронеуротрофина-3, нейротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, нейротрофина-4/5, профактора роста нервов (pro-NGF), фактора роста нервов (NGF), нейротрофического профактора головного мозга (pro-BDNF), нейротрофического фактора головного мозга (BDNF), нейротензина, p75, сортилинового пропептида (Sort-pro), амилоидного белка-предшественника (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9 и связанного с рецептором белка (RAP) и/или вариантами природного происхождения. Предпочтительно антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и p75.

В других аспектах изобретения по настоящему описанию предложены антитела против сортилина, которые связываются с эпитопом, имеющим одну или более аминокислот из аминокислотных остатков His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 сортилина человека (SEQ ID NO: 1); или из аминокислотных остатков на сортилине млекопитающего, соответствующих аминокислотным остаткам His131, Val132, Pro133, Leu134, Val135, Ile136, Met137, Thr138, Arg196, Phe198, Arg199, Phe203, Lys205, Phe207, Thr210, Thr218, Tyr222, Ser223, Ser227, Ser242, Lys243, Lys248, Lys254, Lys260, Ser305, Phe306, Gly307, Arg311, Phe314, Ser316, Arg325, Arg326, Ile327, Phe350, Tyr351, Ser352, Ile353, Asn373, Ser379, Arg382, Tyr386, Ser595 и/или Glu700 из SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и одним или более белков, выбранных из програнулина, пронеуротрофина, нейротрофина, пронеуротрофина-3, нейротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, нейротрофина-4/5, профактора роста нервов (pro-NGF), фактора роста нервов (NGF), нейротрофического профактора головного мозга (pro-BDNF), нейротрофического фактора головного мозга (BDNF), нейротензина, p75, сортилинового пропептида (Sort-pro), амилоидного белка-предшественника (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9 и связанного с рецептором белка (RAP). Предпочтительно антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и програнулином. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина индуцируют одну или более активностей програнулина.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина снижают эндосомальную интернализацию програнулина или его фрагментов. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина увеличивают эффективную концентрацию програнулина.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и нейротрофином по настоящему описанию, таким как пронеуротрофин, пронеуротрофин-3, пронеуротрофин-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофин-3, нейротрофин-4/5, NGF и BDNF. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и нейротензином. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и р75. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и Sort-pro. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и APP. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют продукцию А-бета-пептида. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют транспорт и секретирувание PCSK9. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и LpL. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и АРОА5. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и АРОЕ. В других вариантах реализации изобретения антитела против сортилина ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином по настоящему описанию и RAP.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связываются с белком сортилином по настоящему описанию и/или вариантами природного происхождения. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина связываются с сортилином человека.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связываются с белком сортилином по настоящему описанию, экспрессируются на поверхности клеток, а голые антитела ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином и програнулином, пронеуротрофином, нейротрофином, пронеуротрофином-3, нейротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, нейротрофином-4/5, профактором роста нервов (pro-NGF), фактором роста нервов (NGF), нейротрофическим профактором головного мозга (pro-BDNF), нейротрофическим фактором головного мозга (BDNF), нейротензином, р75, сортилиновым пропептидом (Sort-pro), амилоидным белком-предшественником (APP), А-бета-пептидом, липопротеиновой липазой (LpL), аполиппротеином AV (АРОА5), аполиппротеином Е (АРОЕ), PCSK9 и связанным с рецептором белком (RAP).

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые связываются с белком сортилином по настоящему описанию, ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином и програнулином, пронеуротрофином, нейротрофином, пронеуротрофином-3, нейротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, нейротрофином-4/5, профактором роста нервов (pro-NGF), фактором роста нервов (NGF), нейротрофическим профактором головного мозга (pro-BDNF), нейротрофическим фактором головного мозга (BDNF), нейротензином, р75, сортилиновым пропептидом (Sort-pro), амилоидным белком-предшественником (APP), А-бета-пептидом, липопротеиновой липазой (LpL), аполиппротеином AV (АРОА5), аполиппротеином Е (АРОЕ), PCSK9 и связанным с рецептором белком (RAP) путем снижения эффективных уровней сортилина, который доступен для взаимодействия с этими белками либо на клеточной поверхности, либо внутри клетки.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые связываются с белком сортилином по настоящему описанию, ингибируют взаимодействие (например, связывание) между белком сортилином и програнулином, пронеуротрофином, нейротрофином, пронеуротрофином-3, нейротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, нейротрофином-4/5, профактором роста нервов (pro-NGF), фактором роста нервов (NGF), нейротрофическим профактором головного мозга (pro-BDNF), нейротрофическим фактором головного мозга (BDNF), нейротензином, р75, сортилиновым пропептидом (Sort-pro), амилоидным белком-предшественником (APP), А-бета-пептидом, липопротеиновой липазой (LpL), аполиппротеином AV (АРОА5), аполиппротеином Е (АРОЕ), PCSK9 и связанным с рецептором белком (RAP) путем индукции деградации сортилина.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного антитела, выбранного из любого из антител, перечисленных в табл. 1-3 и 11-15. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного антитела, выбранного из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-

S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85, и любой их комбинации с сортилином на по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, на по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или 100%, по сравнению со связыванием с сортилином в отсутствие антитела против сортилина. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина по настоящему описанию, которое снижает связывание одного или более антител, выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85, и любой их комбинации с сортилином на 100% указывает, что антитело против сортилина по существу полностью блокирует связывание одного или более антител, выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85, и любой их комбинации с сортилином. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина и одно или более антител, выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85, и любой их комбинации, присутствуют в количестве, которое соответствует соотношению 10:1, соотношению 9:1, соотношению 8:1, соотношению 7:1, соотношению 6:1, соотношению 5:1, соотношению 4:1, соотношению 3:1, соотношению 2:1, соотношению 1:1, соотношению 0,75:1, соотношению 0,5:1, соотношению 0,25:1, соотношению 0,1:1, соотношению 0,075:1, соотношению 0,050:1, соотношению 0,025:1, соотношению 0,01:1, соотношению 0,0075:1, соотношению 0,0050:1, соотношению 0,0025:1, соотношению 0,001:1, соотношению 0,00075:1, соотношению 0,00050:1, соотношению 0,00025:1, соотношению 0,0001:1, соотношению 1:10, соотношению 1:9, соотношению 1:8, соотношению 1:7, соотношению 1:6, соотношению 1:5, соотношению 1:4, соотношению 1:3, соотношению 1:2, соотношению 1:0,75, соотношению 1:0,5, соотношению 1:0,25, соотношению 1:0,1, соотношению 1:0,075, соотношению 1:0,050, соотношению 1:0,025, соотношению 1:0,01, соотношению 1:0,0075, соотношению 1:0,0050, соотношению 1:0,0025, соотношению 1:0,001, соотношению 1:0,00075, соотношению 1:0,00050, соотношению 1:0,00025 или соотношению 1:0,0001 антитела против сортилина с одним или более антител, выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-

10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85, и любой их комбинации. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина представлено в избытке на количество, которое находится в диапазоне от около 1, 5-кратного до 100-кратного или более 100-кратного по сравнению с количеством одного или более антител, выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85, и любой их комбинации. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина представлено в количестве, которое составляет около 2-кратного, 3-кратного, 4-кратного, 5-кратного, 6-кратного, 7-кратного, 8-кратного, 9-кратного, 10-кратного, 15-кратного, 20-кратного, 25-кратного, 30-кратного, 35-кратного, 40-кратного, 45-кратного, 50-кратного, 55-кратного, 60-кратного, 65-кратного, 70-кратного, 75-кратного, 80-кратного, 85-кратного, 90-кратного, 95-кратного или 100-кратного избытка по сравнению с количеством одного или более антител, выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84, и S-85, и любой их комбинации.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связываются с эпитопом сортилина человека, который является таким же как или перекрывается с сортилиновым эпитопом, связываемым по меньшей мере одним антителом, выбранным из любого из антител, перечисленных в табл. 1-3 и 11-15. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связываются с эпитопом сортилина человека, который является таким же как или перекрывается с сортилиновым эпитопом, связываемым по меньшей мере одним антителом, выбранным из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6,

S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связывают по существу такой же сортилиновый эпитоп, связываемый по меньшей мере одним антителом, выбранным из любого из антител, перечисленных в табл. 1-3 и 11-15. В некоторых вариантах реализации изобретения, антитела против сортилина по настоящему описанию связывают по существу такой же сортилиновый эпитоп, связываемый по меньшей мере одним антителом, выбранным из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85. Подробные типовые способы картирования эпитопа, с которым связывается антитело, представлены в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурируют за связывание с сортилином одним или более антителами, выбранными из S-6, S-8, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-72, S-83 и любой их комбинацией. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурируют за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из S-5, S-45, S-64, S-65 и любой их комбинацией. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурируют за связывание с сортилином одним или более антителами, выбранными из S-5, S-30, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9 и любой их комбинацией. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурируют за связывание с сортилином одним или более антителами, выбранными из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-28, S-29, S-53, S-56, S-82 и любой их комбинацией. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурируют за связывание с сортилином одним или более антителами, выбранными из S-1, S-3, S-4, S-6, S-7, S-9, S-10, S-11, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-23, S-26, S-27, S-31, S-32, S-38, S-46, S-48, S-51, S-52, S-54, S-55, S-57, S-58, S-59, S-61, S-62, S-68, S-69, S-70, S-71, S-73, S-74, S-75, S-77, S-79, S-80, S-85 и любой их комбинацией. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурируют за связывание с сортилином одним или более антителами, выбранными из S-5, S-12, S-24, S-25, S-30, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-47, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-72, S-76, S-78, S-81, S-83, S-84 и любой их комбинацией. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурируют за связывание с сортилином одним или более антителами, выбранными из S-8, S-49, S-50 и любой их комбинацией. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурируют за связывание с сортилином с одним или более антителами, выбранными из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85 и

любой их комбинацией.

Для определения того, конкурирует ли антитело против сортилина с одним или более антител, выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84, S-85 и любой их комбинации, можно использовать любой подходящий конкурентный анализ или анализ связывания сортилина, известный в данной области техники, такой как анализ BIAcore, анализ ELISA или проточной цитометрии. В типовом конкурентном анализе иммобилизованный сортилин или клетки, экспрессирующие сортилин на поверхности клетки, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, связывающееся с сортилином (например, человека или не являющегося человеком примата), и второе немеченое антитело, исследуемое на предмет способности конкурировать с первым антителом за связывание с сортилином. Второе антитело может присутствовать в супернатанте гибридомы. В качестве контроля иммобилизованный сортилин или экспрессирующие сортилин клетки инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, но не содержащем второе немеченое антитело. После инкубирования в условиях, благоприятных для связывания первого антитела с сортилином, удаляют избыток несвязанного антитела и измеряют количество метки, связанной с иммобилизованным сортилином или экспрессирующими сортилин клетками. Если количество метки, связанной с иммобилизованным сортилином или экспрессирующими сортилин клетками, существенно снижается в исследуемом образце по сравнению с контрольным образцом, то это указывает на то, что второе антитело конкурирует с первым антителом за связывание с сортилином. См., Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY). В некоторых вариантах реализации изобретения конкурентный анализ, который используется с одним или более конкурентных анализов, описан в примерах 1, 3 или 4.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат (а) вариабельный участок легкой цепи, содержащий по меньшей мере один, два или три HVR, выбранных из HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3 из любого из антител, перечисленных в табл. 1-3 и 11-15, или выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85; и/или (b) вариабельный участок тяжелой цепи, содержащий по меньшей мере один, два или три HVR, выбранных из HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 из любого из антител, перечисленных в табл. 1-3 и 11-15, или выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85. В некоторых вариантах реализации изобретения HVR-

- 62 -

13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85; (v) HVR-H2, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H2, перечисленных в табл. 1-3 и 11-15, или из антитела, выбранного из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85; и (vi) HVR-H3, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H3, перечисленных в табл. 1-3 и 11-15, или из антитела, выбранного из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, в которых вариабельный домен легкой цепи содержит один или более из: (a) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6-16, 20-22, 24-25, 512, 584 и 585, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6-16, 20-22, 24-25, 512, 584 и 585; (b) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-40 и 586, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-40 и 586; и (c) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-50, 52, 54-56, 58-62, 64-66, 68-70, 72, 74, 79-80, 82-85, 88-91, 95, 97-101, 103-107, 109, 111-116, 118 и 121-125, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 41-50, 52, 54-56, 58-62, 64-66, 68-70, 72, 74, 79-80, 82-85, 88-91, 95, 97-101, 103-107, 109, 111-116, 118 и 121-125; и/или в которой вариабельный домен тяжелой цепи содержит один или более из: (a) HVR-H1, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145, 147-149, 482-492, 513-524, 567-570, 587, и 591-596, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126-127, 129-130, 133-140, 142, 144-145, 147-149, 482-492, 513-524, 567-570, 587 и 591-596; (b) HVR-H2, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175, 177-178, 493-507, 525-539, 571-579, 588 и 597-603, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150-153, 155-158, 160-166, 169-175, 177-178, 493-507, 525-539, 571-579, 588 и 597-603; и (c) HVR-H3, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-

186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219, 222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249, 252-256 и 540-564, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 179-186, 188, 190-191, 193-197, 199-201, 203-204, 206, 208, 213-214, 216-219, 222-225, 229, 231-234, 236-239, 241, 243-247, 249, 252-256 и 540-564.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат вариабельный участок легкой цепи из любого из антител, перечисленных в табл. 1-3 и 11-15, или выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85; и/или вариабельный участок тяжелой цепи из любого из антител, перечисленных в табл. 1-3 и 11-15, или выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат вариабельный участок легкой цепи и/или вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 317-334, 337-338, 341-345, 348-357, 360-365, 368-372, 375-376, 379-380, 389-392, 395-402, 407-414, 421-422, 425-433, 436-444, 447-448, 451-461, 464-465, 470-479, 604-692.

Любые из антител по настоящему описанию могут быть получены с помощью клеточной линии. В некоторых вариантах реализации изобретения клеточная линия может быть клеточной линией дрожжей. В других вариантах реализации изобретения клеточная линия может быть клеточной линией млекопитающих. В некоторых вариантах реализации изобретения клеточная линия может быть гибридной клеточной линией. Любая клеточная линия, известная в данной области техники, пригодная для продуцирования антител, может быть использована для получения антитела по настоящему описанию. Типовые клеточные линии для продуцирования антител описаны в настоящем описании.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина представляет собой моноклональное антитело против сортилина, выбранное из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина представляет собой антитело-антагонист.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию

нию конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного антитела, выбранного из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связываются с эпитопом сортилина человека, который является таким же как или перекрывается с сортилиновым эпитопом, связываемым по меньшей мере одним антителом, выбранным из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат (а) вариабельный участок легкой цепи, содержащий по меньшей мере один, два или три HVR, выбранных из HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, выбранных из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83; и/или (b) вариабельный участок тяжелой цепи, содержащий по меньшей мере один, два или три HVR, выбранных из HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, выбранных из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83. В некоторых вариантах реализации изобретения HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 содержат последовательности CDR по EU или Kabat, CDR по Chothia или контактных CDR из антитела, выбранного из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из (i) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L1 из антитела, выбранного из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83; (ii) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L2 из антитела, выбранного из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83; (iii) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-L3 из антитела, выбранного из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83; (iv) HVR-H1, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H1 из антитела, выбранного из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72, и S-83; (v) HVR-H2, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H2 из антитела, выбранного из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72, и S-83; и (vi) HVR-H3, содержащего аминокислотную последовательность из любой из последовательностей HVR-H3 из антитела, выбранного из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат вариабельный участок легкой цепи из любого из антител, выбранных из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83; и/или вариабельный участок тяжелой цепи из любого из антител, выбранных из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-83. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина представляет собой моноклональное антитело против сортилина, выбранное из S-5, S-6, S-8, S-45, S-49, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-63, S-64, S-65, S-72 и S-835.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, в которых вариабельный домен легкой цепи содержит один или более из: (a) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 9-12, 14 и 15, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 6, 9-12, 14 и 15; (b) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26, 27, 29, 30 и 32, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26, 27, 29, 30 и 32; и (c) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 45, 46, 48, 85, 89, 100, 103-105, 112 и 123, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 45, 46, 48, 85, 89, 100, 103-105, 112 и 123; и/или при этом вариабельный домен тяжелой цепи содержит один или более из: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126, 127, 136, 140, 142, 145 и 148, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126, 127, 136, 140, 142, 145 и 148; (b) HVR-H2, содержащий ами-

ноокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 151, 152, 163, 166, 169, 170, 173 и 175, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 151, 152, 163, 166, 169, 170, 173, и 175; и (с) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 182, 183, 185, 219, 223, 233, 236, 237, 244 и 254, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 182, 183, 185, 219, 223, 233, 236, 237, 244 и 254.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного антитела, выбранного из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-29, S-51, S57, S-61, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связываются с эпитопом сортилина человека, который является таким же как или перекрывается с сортилиновым эпитопом, связываемым по меньшей мере одним антителом, выбранным из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-29, S-51, S57, S-61, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связывают по существу такой же сортилиновый эпитоп, связываемый по меньшей мере одним антителом, выбранным из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-29, S-51, S57, S-61, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат (а) вариабельный участок легкой цепи, включающий по меньшей мере один, два или три HVR, выбранных из HVR-L1, HVR-L2 и HVR-L3, выбранных из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-29, S-51, S57, S-61, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8; и/или (b) вариабельный участок тяжелой цепи, содержащий по меньшей мере один, два или три HVR, выбранных из HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3, выбранных из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-29, S-51, S57, S-61, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8.

В некоторых вариантах реализации изобретения HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 содержат последовательности CDR по EU или Kabat, CDR по Chothia или контактных CDR из антител, выбранных из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-

- 67 -

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат переменный участок легкой цепи из одного из антител, выбранных из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-29, S-51, S57, S-61, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8; и/или переменный участок тяжелой цепи из одного из антител, выбранных из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-29, S-51, S57, S-61, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина представляет собой моноклональное антитело против сортилина, выбранное из S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-29, S-51, S57, S-61, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7 и S-82-8.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат переменный домен легкой цепи и переменный домен тяжелой цепи, в которых переменный домен легкой цепи содержит один или более из: (a) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7-10, 13 и 14, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 7-10, 13 и 14; (b) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-31 и 33-35, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 26-31 и 33-35; и (c) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 42, 54, 55, 58, 59, 60, 61, 62, 69, 91, 97, 101 и 122, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 42, 54, 55, 58, 59, 60, 61, 62, 69, 91, 97, 101 и 122; и/или причем переменный домен тяжелой цепи содержит один или более из: (a) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126, 129, 130, 135, 140, 142 и 147, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126, 129, 130, 135, 140, 142 и 147; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150, 155-158, 162, 166, 169 и 173, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 150, 155-158, 162, 166, 169 и 173; и (c) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 180, 190, 193-197, 203, 225, 231, 234 и 253, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 180, 190, 193-197, 203, 225, 231, 234 и 253.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию конкурентно ингибируют связывание по меньшей мере одного антитела, выбранного из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связываются с эпитопом сортилина человека, который является таким же как или перекрывается с сортилиновым эпитопом, связываемым по меньшей мере одним антителом, выбранным из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связывают по существу такой же сортилиновый эпитоп, связываемый по меньшей мере одним антителом, выбранным из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связывают по существу такой же сортилиновый эпитоп, связываемый по меньшей мере одним антителом, выбранным из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию связывают по существу такой же сортилиновый эпитоп, связываемый по меньшей мере одним антителом, выбранным из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9.

му описанию содержат (а) вариабельный участок легкой цепи, содержащий по меньшей мере один, два или три HVR, выбранных из HVR-L1, HVR-L2, и HVR-L3, выбранных из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9; и/или (b) вариабельный участок тяжелой цепи, содержащий по меньшей мере один, два или три HVR, выбранных из HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 выбранных из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9. В некоторых вариантах реализации изобретения HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3, HVR-H1, HVR-H2 и HVR-H3 содержат последовательности CDR по EU или Kabat, CDR по Chothia или контактных CDR из антитела, выбранного из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат по меньшей мере один, два, три, четыре, пять или шесть HVR, выбранных из (i) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность любой из последовательностей HVR-L1 из антитела, выбранного из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9; (ii) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность любой из последовательностей HVR-L2 из антитела, выбранного из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9; (iii) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность любой из последовательностей HVR-L3 из антитела, выбранного из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9; (iv) HVR-H1, содержащего аминокислотную последовательность любой из последовательностей HVR-H1 из антитела, выбранного из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, и S-60-9; (v) HVR-H2, содержащего аминокислотную последовательность любой из последовательностей HVR-H2 из антитела, выбранного из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9; и (vi) HVR-H3, содержащего аминокислотную последовательность любой из последовательностей HVR-H3 из антитела, выбранного из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат вариабельный участок легкой цепи любого из антител, выбранных из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9; и/или вариабельный участок тяжелой цепи любого из антител, выбранных из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина представляет собой моноклональное антитело против сортилина, выбранное из S-5, S-30, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8 и S-60-9.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию содержат вариабельный домен легкой цепи и вариабельный домен тяжелой цепи, в которых вариабельный домен легкой цепи содержит один или более из: (а) HVR-L1, содержащего аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 10, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с содержащей аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10; (b) HVR-L2, содержащего аминокислотную последовательность из SEQ ID NO: 30, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью из SEQ ID NO: 30; и (с) HVR-L3, содержащего аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 45, 70 и 100, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 45, 70 и 100; и/или причем вариабельный домен тяжелой цепи содержит один или более из: (а) HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126, 136 и 142, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 126, 136 и 142; (b) HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 151, 163 и 170, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 151, 163 и 170; и (с) HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 182, 204 и 233, или аминокислотную последовательность с по меньшей мере около 95% гомологии с аминокислотной последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 182, 204 и 233.

Константы диссоциации (K_D) антитела против сортилина для сортилина человека, сортилина мыши или их обоих могут составлять менее 100 нМ, менее 90 нМ, менее 80 нМ, менее 70 нМ, менее 60 нМ, менее 50 нМ, менее 40 нМ, менее 30 нМ, менее 20 нМ, менее 10 нМ, менее 9 нМ, менее 8 нМ, менее 7 нМ, менее 6 нМ, менее 5 нМ, менее 4 нМ, менее 3 нМ, менее 2 нМ, менее 1 нМ, менее 0,5 нМ, менее 0,1 нМ, менее 0,09 нМ, менее 0,08 нМ, менее 0,07 нМ, менее 0,06 нМ, менее 0,05 нМ, менее 0,04 нМ, менее 0,03 нМ, менее 0,02 нМ, менее 0,01 нМ, менее 0,009 нМ, менее 0,008 нМ, менее 0,007 нМ, менее 0,006 нМ, менее 0,005 нМ, менее 0,004 нМ, менее 0,003 нМ, менее 0,002 нМ, менее 0,001 нМ или менее 0,001 нМ. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело обладает константой диссоциации (K_D) для сортилина человека, сортилина мыши или их обоих, значение которой лежит в диапазоне от около 100 нМ до около 0,005 нМ, или менее 0,005 нМ. Предпочтительно константа диссоциации составляет менее 50 нМ. В некоторых вариантах реализации изобретения константу диссоциации (K_D) измеряют при 4°C или при комнатной температуре, используя, например, анализ связывания клеток, анализ ForteBio

Дополнительные антитела против сортилина, например антитела, которые специфически связываются с белком сортилином по настоящему описанию, можно идентифицировать, подвергать скринингу или охарактеризовать относительно их физических/химических свойств и/или биологической активности с помощью различных анализов, известных в данной области техники.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию могут уменьшать экспрессию провоспалительных медиаторов после связывания с экспрессированным в клетке белком сортилином.

Примеры провоспалительных медиаторов включают, без ограничения, цитокины, такие как интерфероны I и II типа, IL-6, IL12p70, IL12p40, IL-1 β , TNF- α , IL-8, CRP, представители семейства IL-20, IL-33, LIF, OSM, CNTF, GM-CSF, IL-11, IL-12, IL-17, IL-18 и CRP. Дополнительные примеры провоспали-

тельных медиаторов включают, без ограничения, хемокины, такие как CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию могут уменьшать функциональную экспрессию и/или секретирование провоспалительных медиаторов, IL-6, IL12p70, IL12p40, IL-1 β , TNF- α , CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5. В некоторых вариантах реализации изобретения уменьшенная экспрессия провоспалительных медиаторов происходит в макрофагах, дендритных клетках, моноцитах, остеокластах, клетках Лангерганса кожи, клетках Купфера, Т-клетках и/или микроглиальных клетках. Уменьшенная экспрессия может включать, без ограничения, уменьшение экспрессии генов, уменьшение транскрипционной экспрессии или уменьшение экспрессии белков. Может быть использован любой способ, известный в данной области техники, для определения экспрессии гена, транскрипта (например, мРНК) и/или экспрессии белков. Например, может быть использован анализ нозерн-блоттинга для определения уровней экспрессии генов провоспалительных медиаторов, может быть использована ОТ-ПЦР для определения уровня транскрипции провоспалительных медиаторов, и может быть использован анализ вестерн-блоттинга для определения уровней белков провоспалительных медиаторов.

Как используется в данном документе, провоспалительный медиатор может иметь уменьшенную экспрессию, если его экспрессия в одной или более клетках субъекта, получающего лечение антителом к сортилину, таким как антитело-агонист против сортилина по настоящему описанию, является большей, чем экспрессия такого же провоспалительного медиатора, экспрессируемого в одной или более клетках соответствующего субъекта, не получающего лечение антителом-агонистом против сортилина. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина по настоящему описанию может уменьшать экспрессию провоспалительного медиатора в одной или более клетках субъекта по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 100%, по меньшей мере на 110%, по меньшей мере на 115%, по меньшей мере на 120%, по меньшей мере на 125%, по меньшей мере на 130%, по меньшей мере на 135%, по меньшей мере на 140%, по меньшей мере на 145%, по меньшей мере на 150%, по меньшей мере на 160%, по меньшей мере на 170%, по меньшей мере на 180%, по меньшей мере на 190% или по меньшей мере на 200%, например, по сравнению с экспрессией провоспалительного медиатора в одной или более клетках соответствующего субъекта, который не получал лечение антителом против сортилина. В других вариантах реализации изобретения антитело против сортилина может уменьшать экспрессию провоспалительного медиатора в одной или более клетках субъекта по меньшей мере в 1,5 раза, по меньшей мере в 1,6 раз, по меньшей мере в 1,7 раз, по меньшей мере в 1,8 раз, по меньшей мере в 1,9 раз, по меньшей мере в 2,0 раза, по меньшей мере в 2,1 раза, по меньшей мере в 2,15 раз, по меньшей мере в 2,2 раза, по меньшей мере в 2,25 раз, по меньшей мере в 2,3 раза, по меньшей мере в 2,35 раз, по меньшей мере в 2,4 раза, по меньшей мере в 2,45 раз, по меньшей мере в 2,5 раза, по меньшей мере в 2,55 раз, по меньшей мере в 2,6 раз, по меньшей мере в 2,65 раз, по меньшей мере в 2,7 раз, по меньшей мере в 2,75 раз, по меньшей мере в 2,8 раз, по меньшей мере в 2,85 раз, по меньшей мере в 2,9 раз, по меньшей мере в 2,95 раз, по меньшей мере в 3,0 раз, по меньшей мере в 3,1 раз, по меньшей мере в 3,15 раз, по меньшей мере в 3,2 раз, по меньшей мере в 3,25 раз, по меньшей мере в 3,3 раз, по меньшей мере в 3,35 раз, по меньшей мере в 3,4 раз, по меньшей мере в 3,45 раз, по меньшей мере в 3,5 раз, по меньшей мере в 3,55 раз, по меньшей мере в 3,6 раз, по меньшей мере в 3,65 раз, по меньшей мере в 3,7 раз, по меньшей мере в 3,75 раз, по меньшей мере в 3,8 раз, по меньшей мере в 3,85 раз, по меньшей мере в 3,9 раз, по меньшей мере в 3,95 раз, по меньшей мере в 4,0 раз, по меньшей мере в 4,1 раз, по меньшей мере в 4,15 раз, по меньшей мере в 4,2 раз, по меньшей мере в 4,25 раз, по меньшей мере в 4,3 раз, по меньшей мере в 4,35 раз, по меньшей мере в 4,4 раз, по меньшей мере в 4,45 раз, по меньшей мере в 4,5 раз, по меньшей мере в 4,55 раз, по меньшей мере в 4,6 раз, по меньшей мере в 4,65 раз, по меньшей мере в 4,7 раз, по меньшей мере в 4,75 раз, по меньшей мере в 4,8 раз, по меньшей мере в 4,85 раз, по меньшей мере в 4,9 раз, по меньшей мере в 4,95 раз, по меньшей мере в 5,0 раз, по меньшей мере в 5,1 раз, по меньшей мере в 5,15 раз, по меньшей мере в 5,2 раз, по меньшей мере в 5,25 раз, по меньшей мере в 5,3 раз, по меньшей мере в 5,35 раз, по меньшей мере в 5,4 раз, по меньшей мере в 5,45 раз, по меньшей мере в 5,5 раз, по меньшей мере в 5,55 раз, по меньшей мере в 5,6 раз, по меньшей мере в 5,65 раз, по меньшей мере в 5,7 раз, по меньшей мере в 5,75 раз, по меньшей мере в 5,8 раз, по меньшей мере в 5,85 раз, по меньшей мере в 5,9 раз, по меньшей мере в 5,95 раз, по меньшей мере в 6,0 раз, по меньшей мере в 6,1 раз, по меньшей мере в 6,15 раз, по меньшей мере в 6,2 раз, по меньшей мере в 6,25 раз, по меньшей мере в 6,3 раз, по меньшей мере в 6,35 раз, по меньшей мере в 6,4 раз, по меньшей мере в 6,45 раз, по меньшей мере в 6,5 раз, по меньшей мере в 6,55 раз, по меньшей мере в 6,6 раз, по меньшей мере в 6,65 раз, по меньшей мере в 6,7 раз, по меньшей мере в 6,75 раз, по меньшей мере в 6,8 раз, по меньшей мере в 6,85 раз, по меньшей мере в 6,9 раз, по меньшей мере в 6,95 раз, по меньшей мере в 7,0 раз, по меньшей мере в 7,1 раз, по меньшей мере в 7,15 раз, по меньшей мере в 7,2 раз, по меньшей мере в 7,25 раз, по меньшей мере в 7,3 раз, по меньшей мере в 7,35 раз, по меньшей мере в 7,4 раз, по меньшей мере в 7,45 раз, по меньшей мере в 7,5 раз, по меньшей мере в 7,55 раз, по меньшей мере в 7,6 раз, по меньшей мере в 7,65 раз, по меньшей мере в 7,7 раз, по меньшей мере в 7,75 раз, по меньшей мере в 7,8 раз, по меньшей мере в 7,85 раз, по меньшей мере в 7,9 раз, по меньшей мере в 7,95 раз, по меньшей мере в 8,0 раз, по меньшей мере в 8,1 раз, по меньшей мере в 8,15 раз, по меньшей мере в 8,2 раз, по меньшей мере в 8,25 раз, по меньшей мере в 8,3 раз, по меньшей мере в 8,35 раз, по меньшей мере в 8,4 раз, по меньшей мере в 8,45 раз, по меньшей мере в 8,5 раз, по меньшей мере в 8,55 раз, по меньшей мере в 8,6 раз, по меньшей мере в 8,65 раз, по меньшей мере в 8,7 раз, по меньшей мере в 8,75 раз, по меньшей мере в 8,8 раз, по меньшей мере в 8,85 раз, по меньшей мере в 8,9 раз, по меньшей мере в 8,95 раз, по меньшей мере в 9,0 раз, по меньшей мере в 9,1 раз, по меньшей мере в 9,15 раз, по меньшей мере в 9,2 раз, по меньшей мере в 9,25 раз, по меньшей мере в 9,3 раз, по меньшей мере в 9,35 раз, по меньшей мере в 9,4 раз, по меньшей мере в 9,45 раз, по меньшей мере в 9,5 раз, по меньшей мере в 9,55 раз, по меньшей мере в 9,6 раз, по меньшей мере в 9,65 раз, по меньшей мере в 9,7 раз, по меньшей мере в 9,75 раз, по меньшей мере в 9,8 раз, по меньшей мере в 9,85 раз, по меньшей мере в 9,9 раз, по меньшей мере в 9,95 раз, по меньшей мере в 10 раз, например, по сравнению с экспрессией провоспалительного медиатора в одной или более клетках соответствующего субъекта, который не получал лечение антителом против сортилина.

Fc-изотипы антитела против сортилина.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела по настоящему описанию включают антитела-антагонисты. В некоторых вариантах реализации изобретения антитела, которые связывают белок сортилин могут включать антитела-антагонисты, которые связывают сортилин и ингибируют одну или более активностей сортилина, либо путем предотвращения взаимодействия между сортилином и одним или более из его лигандов (например, програнулином, пронеуротрофином, нейротрофином, нейротензином, р75, сортилиновым пропептидом, APP, А-бета-пептидом, LpL, APOA5, APOE и RAP). В некоторых вариантах реализации изобретения антитело-антагонист по настоящему описанию может содержать Fc-домен, который не способен связывать рецепторы Fc γ .

Типовые блокирующие и/или антагонистические Fc-изотипы антител и модификации приведены ниже в табл. А. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина по настоящему описанию содержит Fc-изотип, отмеченный ниже в табл. А.

Таблица А
Типовые Fc-изотипы антител против сортилина

Fc-изотип	Мутация (схема нумерации по EU или Kabat)
IgG1	N297A или N297Q
IgG1	D265A и N297A
IgG1	L234A и L235A
IgG2	V234A и G237A
IgG4	F235A и G237A и E318A E233P и/или F234V N297A или N297Q
IgG4	S228P и L236ES241PS241P и L248E S228P и F234A и L235A
IgG2	H268Q и V309L и A330S и P331S
IgG1	C220S и C226S и C229S и P238S
IgG1	C226S и C229S и E233P и L234V, и L235A
IgG1	E233P и L234V и L235A и G236-удален P238A D265A N297A A327Q или A327G P329A
IgG1	K322A и L234A и L235A
IgG1	L234F и L235E и P331S
IgG1 или IgG4	T394D
IgG2	C232Sили C233S N297A или N297Q
IgG2	V234A и G237A и P238S и H268A и V309L и A330S и P331S
IgG1, IgG2 или IgG4	Модификации дельта а, b, c, ab, ac, g
IgG1	Любые из вышеперечисленных мутаций вместе с мутациями A330L или L234F и/или L235E и/или P331S
IgG1, IgG2 или IgG4	Любые из вышеперечисленных мутаций вместе с мутациями M252Y и/или S254T и/или T256E

В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина имеет изотип IgG1. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина содержит константный участок IgG1 мыши. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина содержит константный участок IgG1 человека. В некоторых вариантах реализации изобретения константный участок IgG1 человека включает Fc-участок. В некоторых вариантах реализации изобретения Fc-участок содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах реализации изобретения Fc-участок содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc-участком дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах реализации изобретения одну или более аминокислотных замен выбирают из N297A, N297Q (Bolt S et al. (1993) Eur J Immunol 23: 403-411), D265A, L234A, L235A (McEarchern et al., (2007) Blood, 109: 1185-1192), C226S, C229S (McEarchern et al., (2007) Blood, 109: 1185-1192), P238S (Davis et al., (2007) J Rheumatol, 34: 2204-2210), E233P, L234V (McEarchern et al., (2007) Blood, 109: 1185-1192), P238A, A327Q, A327G, P329A (Shields RL. et al., (2001) J Biol Chem. 276(9): 6591-604), K322A, L234F, L235E (Hezareh, et al., (2001) J Virol 75, 12161-12168; Oganessian et al., (2008). Acta Crystallographica64, 700-704), P331S (Oganessian et al., (2008) Acta Crystallographica64, 700-704), T394D (Wilkinson et al. (2013) MAbs 5(3): 406-417), A330L, M252Y, S254T и/или T256E, где положения аминокислот соответствуют правилам нумерации EU или Kabat. В некоторых вариантах реализации изобретения Fc-участок дополнительно включает делецию аминокислоты в положении, соответствующем глицину 236 согласно правилу нумерации EU или Kabat.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитело имеет изотип IgG1 с константным доменом тяжелой цепи, который содержит аминокислотную замену C220S в соответствии с правилом нумерации EU или Kabat.

В некоторых вариантах реализации изобретения Fc-участок дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из A330L, L234F, L235E и/или P331S, в соответствии с правилом нумерации EU или Kabat.

В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина имеет изотип IgG2. В

некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина содержит константный участок IgG2 человека. В некоторых вариантах реализации изобретения константный участок IgG2 человека включает Fc-участок. В некоторых вариантах реализации изобретения Fc-участок содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах реализации изобретения Fc-участок содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc-участком дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах реализации изобретения одна или более аминокислотных замен выбраны из P238S, V234A, G237A, H268A, H268Q, H268E, V309L, N297A, N297Q, V309L, A330S, P331S, C232S, C233S, M252Y, S254T и/или T256E, где положение аминокислот соответствует правилу нумерации EU или Kabat (Vafa O. et al., (2014) *Methods* 65: 114-126).

В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина имеет изотип IgG4. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело против сортилина содержит константный участок IgG4 человека. В некоторых вариантах реализации изобретения константный участок IgG4 человека включает Fc-участок. В некоторых вариантах реализации изобретения Fc-участок содержит одну или более модификаций. Например, в некоторых вариантах реализации изобретения Fc-участок содержит одну или более аминокислотных замен (например, по сравнению с Fc-участком дикого типа того же изотипа). В некоторых вариантах реализации изобретения одну или более аминокислотных замен выбирают из E233P, F234V, L235A, G237A, E318A (Hutchins et al. (1995) *Proc Natl Acad Sci USA*, 92: 11980-11984), S228P, L234A/F234A, L236E, S241P, L248E (Reddy et al., (2000) *J Immunol*, 164: 1925-1933; Angal et al., (1993) *Mol Immunol*, 30(1): 105-8; US 8614299 B2; Vafa O. et al., (2014) *Methods* 65: 114-126), T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, и/или N297Q, где положение аминокислот соответствует правилу нумерации EU или Kabat.

В некоторых вариантах реализации изобретения Fc-участок дополнительно содержит одну или более дополнительных аминокислотных замен, выбранных из M252Y, S254T и/или T256E, где положение аминокислот соответствует правилу нумерации EU или Kabat.

Дополнительные мутации IgG.

В некоторых вариантах реализации изобретения один или более вариантов IgG1, описанных в данном документе, могут быть объединены с мутацией A330L (Lazar et al., (2006) *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 4005-4010), и одной или более из мутаций L234F, L235E и/или P331S (Sazinsky et al., (2008) *Proc Natl Acad Sci USA*, 105: 20167-20172), где положение аминокислот соответствует правилу нумерации EU или Kabat, для устранения активации комплемента. В некоторых вариантах реализации изобретения варианты IgG, описанные в данном документе, могут быть объединены с одной или более мутациями, чтобы увеличить период полувыведения антитела против сортилина из сыворотки крови человека (например, мутации M252Y, S254T, T256E в соответствии с правилом нумерации EU или Kabat) (Dall'Acqua et al., (2006) *J Biol Chem*, 281: 23514-23524; и Strohl et al., (2009) *Current Opinion in Biotechnology*, 20: 685-691).

В некоторых вариантах реализации изобретения вариант IgG4 по настоящему описанию может быть объединен с мутацией S228P в соответствии с правилом нумерации EU или Kabat (Angal et al., (1993) *Mol Immunol*, 30: 105-108) и/или с одной или более мутациями, описанными в Peters et al., (2012) *J Biol Chem*, 13; 287(29): 24525-33) для улучшения стабилизации антитела.

Биспецифические антитела.

Определенные аспекты изобретения по настоящему описанию относятся к биспецифическим антителам, которые связываются с одним или более доменами на белке сортилине по настоящему описанию и вторым антигеном. Способы получения биспецифических антител хорошо известны в данной области техники и описаны в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения биспецифические антитела по настоящему описанию связываются с одним или более аминокислотными остатками из белка сортилина по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения биспецифические антитела по настоящему описанию распознают первый антиген и второй антиген. В некоторых вариантах реализации изобретения первый антиген представляет собой белок сортилин или его вариант природного происхождения. В некоторых вариантах реализации изобретения второй антиген также представляет собой белок сортилин или его вариант природного происхождения. В некоторых вариантах реализации изобретения второй антиген представляет собой антиген, облегчающий транспорт через гематоэнцефалический барьер (см., например, Gabathuler R., *Neurobiol. Dis.* 37 (2010) 48-57). Такие вторые антиген включают, без ограничения, рецептор трансферрина (TR), инсулиновый рецептор (HIR), рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белки 1 и 2 рецептора липопротеинов низкой плотности (LPR-1 и 2), рецептор дифтерийного токсина, CRM197, однодоменное антитело ламы, TMEF 30 (A), белковый домен трансдукции, TAT, Syn-B, пенетратин, полиаргининовый пептид, пептиды ангиопеп, такие как ANG1005 [см., например, Gabathuler, 2010), базигин, Glut1, CD98hc и другие белки клеточной поверхности, которые обогащают эндотелиальные клетки гематоэнцефалического барьера [см., например, Daneman et al., *PLoS One*. 2010 Oct 29; 5(10): e13741).

Комбинации антител.

Некоторые аспекты по настоящему описанию относятся к применению двух или более антител против сортилина, которые при использовании вместе показывают аддитивные или синергические эффекты, по сравнению с применением соответствующего антитела против сортилина.

Фрагменты антител.

Определенные аспекты по настоящему описанию относятся к фрагментам антител, которые связываются с белком сортилином по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагмент антитела представляет собой фрагмент Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv или scFv. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагмент антитела используют в комбинации со вторым антителом к сортилину и/или одним или более антителами, которые специфически связывают вызывающий заболевание белок, выбранный из: бета-амилоида или его фрагментов, тау-белка, IAPP, альфа-синуклеина, TDP-43, белка FUS, прионного белка, PrP^{sc}, хантингтина, кальцитонина, супероксиддисмутазы, атаксина, телец Леви, атриального натрий-уретического фактора, островкового амилоидного полипептида, инсулина, аполипопротеина AI, сывороточного амилоида A, медины, пролактина, транстиретина, лизоцима, бета-2-микроглобулина, гельзолина, кератоэпителина, цистатина, легкой цепи иммуноглобулина AL, белка S-IBM, продуктов трансляции, ассоциированных с повторами не ATG (RAN), пептидов дипептидного повтора (ДПП), пептидов повтора глицин-аланин (GA), пептидов повтора глицин-пролин (GP), пептидов повтора глицин-аргинин (GR), пептидов повтора пролин-аланин (PA) и пептидов повтора пролин-аргинин (PR), и любой их комбинации.

В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты антител по настоящему описанию могут быть функциональными фрагментами, которые связывают такой же эпитоп, что и любое из антител против сортилина по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты антител представляют собой уменьшенные варианты антител против сортилина или фрагментов антител по настоящему описанию, которые содержат такой же эпитоп соответствующего полноразмерного антитела, но имеющие намного меньшую массу молекулы. Такие уменьшенные фрагменты антител против сортилина могут обладать лучшей способностью к проникновению в головной мозг и меньшим периодом полувыведения, что является преимуществом для применения при визуализации и диагностике (см., например, Lütje S et al., *Bioconjug Chem.* 2014 Feb 19; 25(2): 335-41; Tavaré R et al., *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014 Jan 21; 111(3): 1108-13; и Wiehr S et al., *Prostate.* 2014 May; 74(7): 743-55). Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты антител против сортилина по настоящему описанию обладают лучшим проникновением в головной мозг по сравнению с соответствующими полноразмерными антителами и/или имеют меньшие периоды полувыведения по сравнению с соответствующими им полноразмерными антителами.

Каркасы антител.

Любые из антител, описанные в данном документе, дополнительно включают каркас. В некоторых вариантах реализации изобретения каркас представляет собой каркас иммуноглобулина человека. Например, в некоторых вариантах реализации изобретения антитело (например, антитело против сортилина) содержит HVR, как в любом из вышеприведенных вариантов реализации изобретения и дополнительно содержит акцепторный каркас человека, например, иммуноглобулиновый каркас человека или консенсусный каркас человека. Каркасы иммуноглобулина человека могут быть частью антитела человека, или антитело, не являющееся человеческим, может быть гуманизировано путем замены одного или более эндогенных каркасов на каркасный(ые) человек. Каркасные участки человека, которые можно использовать для гуманизации, включают, но не ограничиваются ими: каркасные участки, выбранные с использованием способа "наилучшего соответствия" (см., например, Sims et al. *J. Immunol.* 151: 2296 (1993)); каркасные участки, происходящие от консенсусной последовательности антител человека конкретной подгруппы переменных участков легкой или тяжелой цепи (см., например, Carter et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89: 4285 (1992); и Presta et al. *J. Immunol.*, 151: 2623 (1993)); зрелые (содержащие соматические мутации) каркасные участки человека или эмбриональные каркасные участки человека (см., например, Almagro and Fransson, *Front. Biosci.* 13: 1619-1633 (2008)); и каркасные участки, полученные при скрининге библиотек FR (см., например, Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272: 10678-10684 (1997) и Rosok et al., *J. Biol. Chem.* 271: 22611-22618 (1996)).

В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит переменный участок легкой цепи, содержащий HVR-L1, HVR-L2 HVR-L3 по настоящему описанию и один, два, три или четыре каркасных участка легкой цепи, как показано в табл. 2 и SEQ ID NO: 630, 667 и 641-684. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит переменный участок тяжелой цепи, содержащий HVR-H1, HVR-H2 HVR-H3 по настоящему описанию и один, два, три или четыре каркасных участка тяжелой цепи, как показано в табл. 3 и SEQ ID NO: 604-618, 619-629, 631-666, 668, 669, 670-678-680 и 685-692. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело содержит переменный участок легкой цепи, содержащий HVR-L1, HVR-L2 HVR-L3 по настоящему описанию и один, два, три или четыре каркасных участка легкой цепи, как показано в табл. 2 и SEQ ID NO: 630, 667 и 641-684, и дополнительно содержит переменный участок тяжелой цепи, содержащий HVR-H1, HVR-H2 HVR-H3 по настоящему описанию и один, два, три или четыре каркасных участка тяжелой цепи, как показано в табл. 3 и SEQ ID NO: 604-618, 619-629, 631-666, 668, 669, 670-678-680 и 685-692.

Получение антител.

Антитела против сортилина по настоящему описанию могут включать в себя поликлональные антитела, моноклональные антитела, гуманизированные и химерные антитела, человеческие антитела, фраг-

менты антител (например, Fab, Fab'-SH, Fv, scFv и F(ab')₂), биспецифические и полиспецифические антитела, поливалентные антитела, гетероконъюгаты антител, полученные из библиотек антител, антитела, имеющие модифицированные эффекторные функции, слитые белки, содержащие часть антитела и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая включает сайт распознавания антигена, такой как эпитоп, имеющий аминокислотные остатки белка сортилина по настоящему описанию, включая гликозилированные варианты антител, варианты аминокислотной последовательности антител и ковалентно модифицированные антитела. Антитела против сортилина могут иметь происхождение от человека, мыши, крысы или какое-либо другое происхождение (включая химерные или гуманизированные антитела).

(1) Поликлональные антитела.

Поликлональные антитела, такие как поликлональные антитела против сортилина, как правило, вырабатываются у животных путем множественных подкожных (п/к) или внутривенных (в/в) инъекций соответствующего антигена и адъюванта. Может быть полезным конъюгирование соответствующего антигена (например, очищенный или рекомбинантный белок сортилин по настоящему описанию) с белком, который является иммуногенным для иммунизируемых видов, например, с гемоцианином моллюска *Physa* (KLH), сывороточным альбумином, бычьим тиреоглобулином или ингибитором трипсина сои, с использованием бифункционального или дериватизирующего агента, например, например сложного эфира малеимидобензоилсульфосукцинимид (конъюгирование через остатки цистеина), N-гидроксисукцинимид (через остатки лизина), глутаральдегида, янтарного ангидрида, SOCl₂ или ¹N=C=NR, где R и R¹ представляют собой независимо низшие алкильные группы. Примеры адъювантов, которые могут быть использованы, включают полный адъювант Фрейнда и адъювант MPL-TDM (монофосфорилипид А, синтетический дикориномиколат трегалозы). Протокол иммунизации может быть выбран специалистом в данной области техники без лишних экспериментов.

Животных иммунизируют против желаемого антигена, иммуногенных конъюгатов или производных путем объединения, например, 100 мкг (для кроликов) или 5 мкг (для мышей) белка или конъюгата с 3 объемами полного адъюванта Фрейнда и инъекцией этого раствора внутривенно во множество участков. Спустя месяц животных повторно иммунизируют (бустер-иммунизацией) от 1/5 до 1/10 исходного количества пептида или конъюгата в полном адъюванте Фрейнда подкожной инъекцией во множество участков. Через 7-14 дней у животных берут кровь и анализируют сыворотку в отношении титра антител. Животных стимулируют до достижения постоянного уровня титра. Конъюгаты могут быть также получены в культуре рекомбинантных клеток в виде слитых белков. Также для усиления иммунного ответа являются пригодными агрегирующие агенты, такие как квасцы.

(2) Моноклональные антитела.

Моноклональные антитела, такие как моноклональные антитела против сортилина, получают из популяции по существу гомогенных антител, т.е. индивидуальные антитела, составляющие эту популяцию, являются идентичными за исключением возможных мутаций природного происхождения и/или посттрансляционных модификаций (например, изомеризаций, амидирований), которые могут присутствовать в минорных количествах. Таким образом, определение "моноклональное" указывает на то, что антитело не является смесью отдельных антител.

Например, моноклональные антитела против сортилина могут быть получены с использованием гибридомного способа, впервые описанного Kohler et al., *Nature*, 256: 495 (1975), или могут быть получены способами рекомбинантных ДНК (патент США № 4816567).

В гибридном способе мышь или другое подходящее животное-хозяин, такое как хомяк, иммунизируют, как описано выше, для индукции лимфоцитов, продуцирующих или способных продуцировать антитела, которые будут специфически связываться с белком, использованным для иммунизации (например, очищенный или рекомбинантный белок сортилин по настоящему описанию). В альтернативном варианте лимфоциты можно иммунизировать *in vitro*. Затем лимфоциты сливают с клетками миеломы, используя подходящий агент для слияния, такой как полиэтиленгликоль, с образованием гибридомной клетки (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, p. 59-103 (Academic Press, 1986)).

Как правило, иммунизирующий агент будет включать антигенный белок (например, очищенный или рекомбинантный белок сортилин по настоящему описанию) или его слитый вариант. В целом, если желательным источником является млекопитающее, не являющееся человеком, используют клетки селезенки или клетки лимфатического узла либо, если желательными являются клетки человеческого происхождения, используют лимфоциты периферической крови ("PBL"). Чтобы получить гибридную клетку, лимфоциты сливают с иммортализованной клеточной линией, используя подходящий агент слияния, такой как полиэтиленгликоль. Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press (1986), p. 59-103.

Как правило, иммортализованные клеточные линии представляют собой трансформированные клетки млекопитающих, в частности клетки миеломы грызуна, быка или человека. Обычно используют клеточные линии миеломы крысы или мыши. Полученные таким образом клетки гибридомы высевают и выращивают в подходящей культуральной среде, которая предпочтительно содержит одно или более веществ, которые ингибируют рост или выживаемость неслитых исходных клеток миеломы. Например,

если в исходных клетках миеломы отсутствует фермент гипоксантингуанинфосфорибозилтрансфераза (HGPRT или HPRT), то культуральная среда для гибридом обычно должна включать гипоксантин, аминоптерин и тимидин (среда HAT), и такие вещества предотвращают рост клеток с дефицитом HGPRT.

Предпочтительными иммортализованными миеломными клетками являются такие клетки, которые эффективно сливаются, поддерживают на стабильно высоком уровне продукцию антитела отобранными продуцирующими антитело клетками и чувствительны к такой среде, как среда HAT. Среди них предпочтительными являются линии миеломы мыши, такие как линии, полученные из опухолей мыши МОРС-21 и МРС-11 (доступные из Salk Institute Cell Distribution Center, г. Сан-Диего, штат Калифорния, США), а также клетки SP-2 и их производные (например, X63-Ag8-653) (доступные из Американской коллекции типовых культур, г. Манассас, штат Вирджиния, США). Клеточные линии миеломы человека и гетеромиеломы мыши-человека также были описаны для получения моноклональных антител человека (Kozbor, J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, p. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)).

Культуральную среду, в которой выращивают клетки гибридомы, анализируют в отношении продукции моноклональных антител, направленных против антигена (например, белка сортилина по настоящему описанию). Специфичность связывания моноклональных антител, продуцируемых клетками гибридомы, предпочтительно определяют с помощью иммунопреципитации или анализом связывания *in vitro*, таким как радиоиммуноанализ (РИА) или твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA).

Культуральная среда, в которой выращивают клетки гибридомы, может быть проанализирована на наличие моноклональных антител, направленных против требуемого антигена (например, белка сортилина по настоящему описанию). Аффинность связывания и специфичность моноклональных антител предпочтительно может быть определена с помощью иммунопреципитации или анализом связывания *in vitro*, таким как радиоиммуноанализ (РИА) или твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA). Такие методы известны в данной области техники. Например, аффинность связывания может быть определена с помощью анализа Скэтчарда по Munson et al., Anal. Biochem., 107: 220 (1980).

После идентификации клеток гибридомы, которые продуцируют антитела требуемой специфичности, аффинности и/или активности, клоны могут быть субклонированы способами лимитирующего разведения и выращены стандартными способами (Goding, выше). Подходящие культуральные среды для указанной цели включают, например, среду D-MEM или RPMI-1640. Кроме того, клетки гибридомы могут быть выращены *in vivo* в виде опухолей в организме животного.

Моноклональные антитела, секретируемые субклонами, соответствующим образом выделяют из культуральной среды, асцитной жидкости или сыворотки традиционными способами очистки иммуноглобулинов, такими как, например, хроматография на протеине А-сефарозе, хроматография на гидроксилапатите, гель-электрофорез, диализ, аффинная хроматография и другие методы, описанные выше.

Моноклональные антитела против сортилина также могут быть получены способами рекомбинантной ДНК, такими как способы, описанные в патенте США № 4816567 и описанные выше. ДНК, кодирующую моноклональные антитела, легко выделяют и секвенируют, используя обычные процедуры (например, используя олигонуклеотидные зонды, которые способны специфично связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи мышиных антител). Клетки гибридомы служат в качестве предпочтительного источника такой ДНК. После выделения ДНК может быть помещена в экспрессионные векторы, которые затем трансфицируют в клетки-хозяева, такие как клетки *E. coli*, клетки COS обезьяны, клетки яичника китайского хомячка (СНО) или клетки миеломы, которые в противном случае не продуцируют белок иммуноглобулина, чтобы синтезировать моноклональные антитела в таких рекомбинантных клетках-хозяевах. Обзорные статьи по рекомбинантной экспрессии бактериальной ДНК, кодирующей антитело, включают Skerra et al., Curr. Opin. Immunol., 5: 256-262 (1993) и Plückthun, Immunol. Rev. 130: 151-188 (1992).

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина могут быть выделены из фаговых библиотек антител, созданных с использованием методик, описанных в McCafferty et al., Nature, 348: 552-554 (1990). Clackson et al., Nature, 352: 624-628 (1991) и Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991), описывающих выделение из фаговых библиотек мышиных и человеческих антител, соответственно. В последующих публикациях описано получение высокоаффинных (наномолярный ("нМ") диапазон) антител человека с помощью перетасовки цепей (Marks et al., Bio/Technology, 10: 779-783 (1992)), также комбинаторной инфекции *in vivo* и рекомбинации в качестве стратегии конструирования очень больших фаговых библиотек (Waterhouse et al., Nucl. Acids Res., 21: 2265-2266 (1993)). Таким образом, такие методики являются приемлемыми альтернативами традиционным способам на основе продуцирующих моноклональных антител гибридом для выделения моноклональных антител требуемой специфичности (например, которые связывают белок сортилин по настоящему описанию).

ДНК, кодирующая антитела или их фрагменты, может быть также модифицирована, например, путем замены последовательности, кодирующей константные домены тяжелой и легкой цепи, вместо гомологичных мышиных последовательностей (патент США № 4816567; Morrison, et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA, 81: 6851 (1984)), или ковалентным присоединением к кодирующей иммуноглобулиновый последовательности всей или части последовательности, кодирующей неиммуноглобулиновый полипептид. Обыч-

но такими неиммуноглобулиновыми полипептидами заменяют константные домены антитела или ими заменяют вариабельные домены одного антигенсвязывающего сайта антитела, чтобы создать химерное бивалентное антитело, содержащее один антигенсвязывающий участок, имеющий специфичность по отношению к антигену, и другой антигенсвязывающий участок, имеющий специфичность по отношению к другому антигену.

Моноклональные антитела, описанные в данном документе, (например, антитела против сортилина по настоящему описанию или их фрагменты) могут быть моновалентными, получение которых хорошо известно в данной области техники. Например, один метод включает рекомбинантную экспрессию легкой цепи и модифицированной тяжелой цепи иммуноглобулина. Тяжелую цепь, как правило, укорачивают в любой точке Fc-участка для предотвращения перекрестного сшивания тяжелой цепи. В альтернативном варианте релевантные остатки цистеина могут быть заменены другим аминокислотным остатком или удалены для предотвращения перекрестного сшивания. Способы *in vitro* также пригодны для получения моноклональных антител. Расщепление антител для получения их фрагментов, в частности фрагментов Fab, можно осуществить с использованием обычных методик, известных в данной области техники.

Химерные или гибридные антитела против сортилина также можно получать *in vitro* с использованием известных способов в химии синтетических белков, включая способы с использованием перекрестно сшивающих агентов. Например, иммунотоксины могут быть сконструированы с помощью реакции дисульфидного обмена или путем формирования простой тиоэфирной связи. Примеры приемлемых для этой цели реагентов включают иминотиолат и метил-4-меркаптобутиримидат.

(3) Гуманизированные антитела.

Антитела против сортилина по настоящему описанию или фрагменты данных антител могут дополнительно включать гуманизированные антитела или антитела человека. Гуманизированные формы не являющихся человеческими антител (например, мышиных) представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие субпоследовательности антител), которые содержат минимальную последовательность, полученную из не являющегося человеческим иммуноглобулина. Гуманизированные антитела включают иммуноглобулины человека (реципиентное антитело), в которых остатки из определяющего комплементарность участка (CDR) реципиента заменены остатками CDR отличных от человека видов (донорное антитело), таких как мышь, крыса или кролик, обладающими требуемой специфичностью, аффинностью и емкостью. В некоторых случаях остатки каркасного участка Fv иммуноглобулина человека заменены соответствующими остатками, не являющимися человеческими. Гуманизированные антитела могут также включать остатки, которые не присутствуют ни в антителе реципиента, ни в импортированной CDR или последовательностях каркасных участков. В целом, гуманизированное антитело содержит по существу все из по меньшей мере одного, а обычно двух вариабельных доменов, в которых все или практически все участки CDR соответствуют таковым в нечеловеческом иммуноглобулине, а все или практически все участки FR представляют собой участки консенсусной последовательности иммуноглобулина человека. Оптимально, чтобы гуманизированное антитело содержало также по меньшей мере участок константного участка иммуноглобулина (Fc), как правило, иммуноглобулина человека. Jones et al., *Nature* 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332: 323-329 (1988) и Presta, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2: 593-596 (1992).

В данной области техники хорошо известны способы гуманизации нечеловеческих антител против сортилина. Как правило, гуманизированное антитело содержит один или более аминокислотных остатков, введенных из источника, не являющегося человеком. Эти не совпадающие с человеческими аминокислотными остатками часто называют "импортируемыми" остатками, которые обычно получают из "импортируемого" вариабельного домена. По существу гуманизацию можно осуществлять, согласно способу Winter и сотрудников, Jones et al., *Nature* 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332: 323-327 (1988); Verhoeven et al., *Science* 239: 1534-1536 (1988), или посредством замены CDR или последовательностей CDR грызунов на соответствующие последовательности антитела человека. Таким образом, такие "гуманизированные" антитела являются химерными антителами (патент США № 4816567), в которых по существу по меньшей мере интактный вариабельный домен человека, был заменен соответствующей последовательностью из вида, не относящегося к человеку. На практике гуманизированные антитела являются обычно антителами человека, в которых некоторые остатки CDR и, возможно, некоторые остатки FR заменены остатками из аналогичных сайтов в антителах грызунов.

Выбор вариабельных доменов, как легкой, так и тяжелой цепи человека, для использования в получении гуманизированных антител является очень важным для уменьшения антигенности. Согласно так называемому способу "оптимальной подгонки" последовательность вариабельного домена антитела грызуна подвергают скринингу по сравнению с полной библиотекой известных последовательностей вариабельных доменов человека. Человеческую последовательность, которая наиболее близка последовательности грызуна, затем берут в качестве человеческого каркасного участка (FR) для гуманизированного антитела. Sims et al., *J. Immunol.*, 151: 2296 (1993); Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 196: 901 (1987). В другом способе используют особый каркас, полученный из консенсусной последовательности всех антител че-

ловека конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. Один и тот же каркас можно использовать для нескольких разных гуманизированных антител. Carter et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89: 4285 (1992); Presta et al., J. Immunol. 151: 2623 (1993).

Кроме того, важно, чтобы антитела были гуманизированы с сохранением высокой аффинности по отношению к антигену и других благоприятных биологических свойств. Для достижения указанной цели, в соответствии с предпочтительным способом, гуманизированные антитела получают, проводя анализ исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов с использованием трехмерных моделей исходных и гуманизированных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулинов общедоступны и известны специалистам в данной области техники. Доступны компьютерные программы, которые иллюстрируют и показывают возможные трехмерные конформационные структуры отобранных для исследования последовательностей иммуноглобулина. Исследование таких изображений позволяет проанализировать вероятную роль остатков в функционировании отобранной для исследования последовательности иммуноглобулина, т.е. анализировать остатки, которые влияют на способность отобранного для исследования иммуноглобулина связывать соответствующий ему антиген. Таким образом могут быть отобраны и объединены остатки FR из реципиентных и импортируемых последовательностей так, чтобы добиться требуемых характеристик антитела, таких как повышенная аффинность по отношению к антигену(ам)-мишени(ям) (например, сортиновым белкам по настоящему описанию). В общем, остатки CDR непосредственно и в наибольшей степени влияют на связывание антигена.

Рассматриваются различные формы гуманизированного антитела против сортина. Например, гуманизированное антитело против сортина может представлять собой фрагмент антитела, такой как Fab, который для образования конъюгата необязательно конъюгирован с одним или более цитотоксическими агентами. В альтернативном варианте антитело против сортина может быть интактным антителом, таким как интактное антитело к IgG1.

(4) Антитела человека.

В альтернативном варианте могут быть получены антитела человека против сортина. К примеру, в настоящее время можно получать трансгенных животных (например, мышей) которые способны после иммунизации продуцировать полный репертуар антител человека в отсутствие продукции эндогенных иммуноглобулинов. Гомозиготная делеция гена соединяющего участка тяжелой цепи (J_H) антитела у химерных и мутантных по зародышевой линии мышей приводит к полному ингибированию продукции эндогенных антител. Перенос набора генов иммуноглобулинов зародышевой линии человека в такие мутантные по зародышевой линии мыши должен приводить к продукции антител человека при антигенной стимуляции. См., например, Jakobovits et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 90: 2551 (1993); Jakobovits et al., Nature, 362: 255-258 (1993); Bruggermann et al., Year in Immunol., 7: 33 (1993); патенты США №5591669 и WO 97/17852.

В альтернативном варианте для продукции антител человека против сортина и фрагментов антител *in vitro* можно использовать технологию фагового дисплея с использованием репертуаров генов вариабельных (V) доменов иммуноглобулинов от неиммунизированных доноров. McCafferty et al., Nature 348: 552-553 (1990); Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol. 227: 381 (1991). Согласно указанной методике гены V-доменов антител клонируют в рамке считывания с геном либо основного, либо минорного белка оболочки нитчатого бактериофага, такого как M13 или fd, и выводят в виде функциональных фрагментов антител на поверхность фаговой частицы. Поскольку нитчатая частица содержит копию фагового генома в виде одноцепочечной ДНК, отбор на основе функциональных свойств антитела также приводит к отбору гена, кодирующего антитело, проявляющее такие свойства. Таким образом, фаг имитирует некоторые свойства В-клетки. Фаговый дисплей может быть выполнен во многих форматах, обзор которых приведен в, например, Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., Curr. Opin Struct. Biol. 3: 564-571 (1993). Для фагового дисплея можно использовать несколько источников сегментов V-генов. Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991) выделили широкий спектр антител к оксазолону из небольшой случайной комбинаторной библиотеки V-генов, полученной из селезенки иммунизированных мышей. Можно сконструировать репертуар V-генов неиммунизированных людей-доноров и можно выделить антитела к широкому спектру антигенов (включая аутоантигены), по существу следуя методу, описанному Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1991) или Griffith et al., EMBO J. 12: 725-734 (1993). См. также, например, патенты №5565332 и 5573905. В дополнение к этому, для продукции антител против сортина и фрагментов антител можно использовать технологию дрожжевого дисплея *in vitro* (например, WO 2009/036379; WO 2010/105256; WO 2012/009568; US 2009/0181855; US 2010/0056386 и Feldhaus and Siegel (2004) J. Immunological Methods 290: 69-80). В других вариантах реализации изобретения для продукции антител против сортина и фрагментов антител можно использовать технологию рибосомального дисплея *in vitro* (например, Roberts and Szostak (1997) Proc Natl Acad Sci 94: 12297-12302; Schaffitzel et al. (1999) J. Immunological Methods 231: 119-135; Lipovsek and Plückthun (2004) J. Immunological Methods 290: 51-67).

Методики Cole et al. и Boerner et al., также доступны для получения моноклональных антител против сортина (Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985) и Boerner et al., J. Immunol. 147(1): 86-95 (1991). Аналогично антитела человека против сортина можно получать

путем введения локусов иммуноглобулинов человека трансгенным животным, например, мышам, у которых гены эндогенных иммуноглобулинов частично или полностью инактивированы. При стимуляции наблюдается продукция антител человека, которые сильно, во всех отношениях, похожи на антитела, выявляемые у людей, включая перестройку генов, сборку и репертуар антител. Этот подход описан, например, в патентах США №5545807; 5545806, 5569825, 5625126, 5633425, 5661016 и следующих научных публикациях: Marks et al., *Bio/Technology* 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., *Nature* 368: 856-859 (1994); Morrison, *Nature* 368: 812-13 (1994), Fishwild et al., *Nature Biotechnology* 14: 845-51 (1996), Neuberger, *Nature Biotechnology* 14: 826 (1996) и Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13: 65-93 (1995).

Наконец антитела человека против сортилина также могут быть получены *in vitro* путем активации В-клеток (см. патенты США № 5567610 и 5229275).

(5) Фрагменты антител.

В некоторых вариантах реализации изобретения существуют преимущества для использования фрагментов антител против сортилина, а не целых антител против сортилина. Меньшие размеры фрагментов обеспечивают быстрый клиренс и лучшее проникновение в головной мозг.

Для получения фрагментов антител разработаны различные методики. Традиционно такие фрагменты получали в результате протеолитического расщепления интактных антител (см., например, Morimoto et al., *J. Biochem. Biophys. Method.* 24: 107-117 (1992) и Brennan et al., *Science* 229: 81 (1985)). Однако в настоящее время такие фрагменты могут непосредственно продуцироваться рекомбинантными клетками-хозяевами или, например, с использованием нуклеиновых кислот, кодирующих антитела против сортилина по настоящему описанию. Все фрагменты антител Fab, Fv и scFv можно экспрессировать и выделять из *E. coli*, тем самым обеспечивая прямое получение больших количеств этих фрагментов. Фрагменты антител против сортилина также можно выделять из фаговых библиотек антител, обсуждавшихся выше. В альтернативном варианте фрагменты Fab'-SH могут быть непосредственно извлечены из клеток *E. coli* и химически соединены с образованием фрагментами F(ab')₂ (Carter et al., *Bio/Technology* 10: 163-167 (1992)). Согласно другому подходу фрагменты F(ab')₂ можно выделять непосредственно из культуры рекомбинантных клеток-хозяев. Продукция фрагментов антител Fab и F(ab')₂ с увеличенными периодами полувыведения *in vivo* описана в патенте США №5869046. В других вариантах реализации изобретения выбранное антитело представляет собой одноцепочечный фрагмент Fv (ScFv). См. WO 93/16185; патенты США №5571894 и патент США №5587458. Фрагмент антитела также может представлять собой "линейное антитело", например, описанное в патенте США 5641870. Такие линейные фрагменты антител могут быть моноспецифическими или биспецифическими.

(6) Биспецифические или полиспецифические антитела.

Биспецифические антитела (BsAb) являются антителами, которые имеют специфичности связывания в отношении по меньшей мере двух различных эпитопов, в том числе эпитопов на одном и том же или на другом белке (например, один или более сортилиновых белков по настоящему описанию). В альтернативном варианте одно плечо BsAb может быть сконструировано для связывания с целевым сортилиновым антигеном, а другое плечо может быть объединено с плечом, которое связывается со вторым белком. Такие антитела могут быть получены из полноразмерных антител или фрагментов антител (например, F(ab')₂ биспецифических антител).

В данной области техники известны способы получения биспецифических антител. Традиционное получение полноразмерных биспецифических антител основано на совместной экспрессии двух пар тяжелых цепей/легких цепей иммуноглобулина, где эти две пары цепей обладают различной специфичностью. Millstein et al., *Nature*, 305: 537-539 (1983). Из-за случайного ассортимента тяжелых и легких цепей иммуноглобулинов эти гибридомы (квадромы) продуцируют потенциальную смесь 10 различных молекул антител, из которых только одна обладает правильной биспецифической структурой. Очистка правильной молекулы, которую обычно выполняют на этапе аффинной хроматографии, является довольно трудоемкой, и выход продукта низок. Сходные процедуры описаны в WO 93/08829 и в Traunecker et al., *EMBO J.*, 10: 3655-3659 (1991).

В соответствии с другим подходом, вариабельные домены антитела с желательной специфичностью связывания (сайтами связывания антитело-антиген) объединяют в последовательности константных доменов иммуноглобулинов. Гибридизация предпочтительно происходит в константном домене тяжелой цепи иммуноглобулина, содержащем по меньшей мере часть шарнирных участков C_H2 и C_H3. Предпочтительно иметь первую константную область тяжелой цепи (C_H1), содержащую сайт, необходимый для связывания легкой цепи, присутствующий в по меньшей мере одном из слияний. ДНК, кодирующие слияния тяжелых цепей иммуноглобулинов и, при желании, легкие цепи иммуноглобулинов, внедряют в отдельные экспрессионные векторы и совместно трансфицируют в организм подходящего хозяина. Это обеспечивает большую гибкость при коррекции взаимного соотношения трех полипептидных фрагментов в вариантах реализации изобретения, когда неравное соотношение трех полипептидных цепей, используемых в конструкции, обеспечивает оптимальный выход. В то же время можно вставлять кодирующие последовательности двух или всех трех полипептидных цепей в один экспрессионный вектор, если экспрессия по меньшей мере двух полипептидных цепей в равных соотношениях приводит к высокому выходу или если их соотношение не имеет особого значения.

В предпочтительном варианте реализации этого подхода биспецифические антитела состоят из гибридной тяжелой цепи иммуноглобулина с первой специфичностью связывания в одном плече и гибридной пары тяжелая цепь - легкая цепь иммуноглобулина (обеспечивающей вторую специфичность связывания) в другом плече. Было обнаружено, что эта асимметричная структура облегчает отделение требуемого биспецифического соединения от нежелательных комбинаций цепей иммуноглобулинов, так как присутствие легкой цепи иммуноглобулина только в одной половине этих биспецифических молекул обеспечивает легкий путь отделения. Этот подход описан в WO 94/04690. В отношении дополнительных подробностей образования биспецифических антител см., например, Suresh et al., *Methods in Enzymology* 121: 210 (1986).

В соответствии с другим подходом, описанным в WO 96/27011 или патенте США №5731168, область контакта между парой молекул антител может быть сконструирована таким образом, чтобы максимизировать процент гетеродимеров, которые извлекают из культуры рекомбинантных клеток. Предпочтительная область контакта содержит по меньшей мере часть участка C_H3 константного домена антитела. В этом способе одна или более малых боковых цепей аминокислот из области контакта молекулы первого антитела заменены большими боковыми цепями (например, тирозина или триптофана). Компенсаторные "полости" идентичного или сходного размера относительно больших боковых цепей создаются на области контакта второй молекулы антитела путем замены больших аминокислотных боковых цепей меньшими (например, аланина или треонина). Это обеспечивает механизм повышения выхода гетеродимера по сравнению с другими нежелательными конечными продуктами, например, гомодимерами.

В литературе были описаны способы получения биспецифических антител из фрагментов антител. Например, можно получать биспецифические антитела за счет химического связывания. Brennan et al., *Science* 229: 81 (1985) описывают процедуру, в которой интактные антитела протеолитически расщепляют с созданием фрагментов F(ab')₂. Эти фрагменты восстанавливают в присутствии арсенита натрия, образующего комплексы с дитиолами, для стабилизации вицинальных дитиолов и предотвращения образования межмолекулярных дисульфидных связей. Затем полученные фрагменты Fab' превращают в тионитробензоатные (TNB) производные. Затем одно из производных Fab'-TNB повторно превращают в производное Fab'-TNB с образованием биспецифического антитела. Полученные биспецифические антитела можно использовать в качестве агентов для селективной иммобилизации ферментов.

Фрагменты Fab' могут быть непосредственно извлечены из *E. coli* и химически связаны с образованием биспецифических антител. Shalaby et al., *J. Exp. Med.* 175: 217-225 (1992) описывают образование полностью гуманизированных молекул F(ab')₂ биспецифического антитела. Каждый фрагмент Fab' отдельно секретируется из *E. coli* и подвергается направленному химическому связыванию *in vitro* с получением биспецифического антитела. Образованное таким образом биспецифическое антитело было способно связываться с клетками, сверхэкспрессирующими рецептор ErbB₂, и нормальными Т-клетками человека, а также запускать литическую активность цитотоксических лимфоцитов человека против мишеней опухоли молочной железы человека.

Были также описаны разнообразные методики получения и выделения бивалентных фрагментов антител непосредственно из культуры рекомбинантных клеток. Например, были получены бивалентные гетеродимеры с использованием лейциновых молний. Kostelny et al., *J. Immunol.*, 148(5): 1547-1553 (1992). Пептиды лейциновой молнии из белков Fos и Jun связывали с частями Fab' двух разных антител слиянием генов. Гомодимеры антител восстанавливали по шарнирной области с образованием мономеров, а затем повторно окисляли с образованием гетеродимеров антител. В технологии "диател", описанной Hollinger et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 90: 6444-6448 (1993), предложен альтернативный механизм для получения биспецифических/бивалентных фрагментов антител. Эти фрагменты содержат вариативный домен тяжелой цепи (V_H), соединенный с вариативным доменом легкой цепи (V_L) посредством линкера, который является слишком коротким, чтобы сделать возможным спаривание между этими двумя доменами на одной и той же цепи. Таким образом, домены V_H и V_L одного фрагмента вынуждены спариваться с комплементарными доменами V_L и V_H другого фрагмента с образованием посредством этого двух антигенсвязывающих сайтов. Сообщалась также другая стратегия для получения биспецифических/бивалентных фрагментов антител с использованием одноцепочечных димеров Fv (sFv). См. Gruber et al., *J. Immunol.*, 152: 5368 (1994).

Также рассматриваются антитела, имеющие более двух валентностей. Например, можно получать триспецифические антитела. Tutt et al., *J. Immunol.* 147: 60 (1991).

Типовые биспецифические антитела могут связываться с двумя различными эпитопами на данной молекуле (например, белок сортилин по настоящему описанию). В альтернативном варианте плечо, нацеливающее на сортилиновый компонент передачи сигнала, можно объединять с плечом, связывающимся с триггерной молекулой на лейкоците, например, Т-клеточным рецептором (например, CD2, CD3, CD28 или B7) или рецептором Fc для IgG (FcγR), таким как FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD16), с целью сосредоточить клеточные защитные механизмы на экспрессирующей конкретный белок клетке. Биспецифические антитела также можно использовать для локализации цитотоксических агентов в клетках, экспрессирующих конкретный белок. Такие антитела обладают связывающим белок плечом и плечом, связывающим цитотоксический агент или хелатор радионуклида, такой как EOTUBE, DPTA,

ДОТА или ТЕТА. Другое интересующее биспецифическое антитело связывает интересующий белок и дополнительно связывает тканевый фактор (TF).

(7) Поливалентные антитела.

Поливалентное антитело может интернализироваться (и/или катаболизироваться) быстрее, чем бивалентное антитело, клеткой, экспрессирующей антиген, с которым связываются антитела. Антитела против сортилина по настоящему описанию или их фрагменты антител могут представлять собой поливалентные антитела (которые могут относиться к классу, отличному от класса IgM) с тремя или более антигенсвязывающими сайтами (например, четырехвалентные антитела), которые можно легко получать посредством рекомбинантной экспрессии нуклеиновой кислоты, кодирующей полипептидные цепи антитела. Поливалентное антитело может содержать домен димеризации и три или более антигенсвязывающих сайтов. Предпочтительный домен димеризации содержит Fc-участок или шарнирный участок. В этом случае, антитело будет содержать Fc-участок и три или более антигенсвязывающих сайтов со стороны аминоконца Fc-участка. Предпочтительное поливалентное антитело, представленное в данном документе, содержит от трех до около восьми, но предпочтительно четыре, антигенсвязывающих сайта. Поливалентное антитело содержит по меньшей мере одну полипептидную цепь (и предпочтительно две полипептидные цепи), причем полипептидная цепь, или цепи, содержит два или более переменных доменов. Например, полипептидная цепь, или цепи, может содержать VD1-(X1)_n-VD2-(X2)_n-Fc, причем VD1 представляет собой первый переменный домен, VD2 представляет собой второй переменный домен, Fc представляет собой одну полипептидную цепь Fc-участка, X1 и X2 представляют собой аминокислоту или полипептид, а n равно 0 или 1. Аналогично, полипептидная цепь, или цепи, может содержать цепь V_H-C_H1-гибкий линкер-V_H-C_H1-Fc-участок или цепь V_H-C_H1-V_H-C_H1-Fc-участок. Поливалентное антитело, представленное в данном документе, предпочтительно дополнительно содержит по меньшей мере два (и предпочтительно четыре) полипептида переменного домена легкой цепи. Поливалентное антитело, представленное в данном документе, например, может содержать от приблизительно двух до около восьми полипептидов переменного домена легкой цепи. Полипептиды переменного домена легкой цепи, рассматриваемые в данном документе, содержат переменный домен легкой цепи и, необязательно, дополнительно содержат домен CL. Поливалентные могут распознавать сортилиновый антиген, а также, без ограничения, дополнительные антигены: антиген А-бета-пептида или антиген белка альфа-синуклеина, или антиген тау-белка, или антиген белка TDP-43, или антиген прионного белка, или антиген белка хантингтина, или RAN, антиген продуктов трансляции, включая дипептидные повторы (пептиды DPR), состоящие из глицин-аланина (GA), глицин-пролина (GP), глицин-аргинина (GR), пролин-аланина (PA) или пролин-аргинина (PR), инсулиновому рецептору, рецептору инсулиноподобного фактора роста или любому другому антигену, который облегчает перенос антитела через гематоэнцефалический барьер.

(8) Антитела-гетероконъюгаты.

Антитела-гетероконъюгаты также попадают объем настоящего описания. Антитела-гетероконъюгаты состоят из двух ковалентно связанных антител (например, антител против сортилина по настоящему описанию или фрагментов таких антител). Например, одно из антител в составе гетероконъюгата можно связать с авидином, а другое - с биотином. Такие антитела, например, предложены для нацеливания клеток иммунной системы на нежелательные клетки (патент США № 4676980, и их использовали для лечения ВИЧ-инфекции. Международные публикации № WO 91/00360, WO 92/200373 и EP 0308936. Предполагается, что антитела можно получать *in vitro* с использованием известных способов в химии синтетических белков, включая способы с использованием перекрестно сшивающих агентов. Например, иммунотоксины могут быть сконструированы с помощью реакции дисульфидного обмена или путем формирования простой тиоэфирной связи. Примеры приемлемых для этой цели реагентов включают имиотиолат и метил-4-меркаптобутиримидат и реагенты, описанные, например, в патенте США № 4676980. Антитела-гетероконъюгаты можно получать с использованием любых удобных способов перекрестного связывания. Подходящие перекрестно связывающие агенты хорошо известны в данной области техники и описаны в патенте США № 4676980, наряду с рядом методик перекрестного связывания.

(9) Конструирование эффекторной функции.

Кроме того, может быть желательной модификация антитела против сортилина по настоящему описанию для изменения эффекторной функции и/или для увеличения периода полувыведения антитела из сыворотки. Например, сайт связывания с рецептором Fc на константном участке может быть модифицирован или мутирован с целью устранения или снижения аффинности связывания с определенными рецепторами Fc, такими как FcγRI, FcγRII и/или FcγRIII. В некоторых вариантах реализации изобретения эффекторная функция нарушается путем устранения N-гликозилирования Fc-участка (например, в домене CH2 IgG) антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения эффекторная функция нарушается путем модификации участков, таких как 233-236, 297 и/или 327-331 IgG человека, как описано в PCT WO 99/58572 и Armour et al., *Molecular Immunology* 40: 585-593 (2003); Reddy et al., *J. Immunology* 164: 1925-1933 (2000).

Для увеличения периода полувыведения антитела из сыворотки можно встраивать эпитоп связывания рецептора реутилизации в антитело (особенно во фрагмент антитела), как описано, например, в па-

тенте США 5739277. Как используется в данном документе, термин "эпитоп связывания рецептора ре-утилизации" относится к эпитопу Fc-участка молекулы IgG (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃ или IgG₄), который отвечает за увеличение периода полувыведения молекулы IgG из сыворотки *in vivo*.

(10) Другие модификации аминокислотной последовательности.

Рассматриваются также модификации аминокислотной последовательности антител против сортилина по настоящему описанию или фрагментов таких антител. Например, может быть желательным улучшение аффинности связывания и/или других биологических свойств антител или фрагментов антител. Варианты аминокислотной последовательности антител или фрагментов антител получают путем введения соответствующих нуклеотидных изменений в нуклеиновую кислоту, кодирующую антитела или фрагменты антител, или путем пептидного синтеза. Такие модификации включают, например, делеции и/или инсерции, и/или замены остатков в аминокислотных последовательностях антитела. Любая комбинация делеции, вставки и замены осуществляется для получения конечной конструкции, при условии, что конечная конструкция обладает желаемыми характеристиками (т.е. способностью связываться или физически взаимодействовать с белком сортилином по настоящему описанию). Аминокислотные замены также могут изменять посттрансляционный процессинг антитела, например, изменять число или положение сайтов гликозилирования.

Пригодный способ идентификации некоторых остатков или участков антитела против сортилина, которые являются предпочтительными положениями для мутагенеза, называется "мутагенезом с аланиновым сканированием", как описано Cunningham и Wells в *Science*, 244: 1081-1085 (1989). Согласно данному методу идентифицируют остаток или группу остатков-мишеней (например, заряженные остатки, такие как arg, asp, his, lys и glu) и заменяют их нейтральными или отрицательно заряженными аминокислотами (наиболее предпочтительно аланином или полиаланином) для оказания влияния на взаимодействие аминокислот с антигеном-мишенью. Такие положения аминокислот, демонстрирующие функциональную чувствительность к заменам, далее модифицируют введением дополнительных или других вариантов в или на сайты замен. Таким образом, в то время как сайт введения вариантов аминокислотной последовательности заранее установлен, природа мутации *per se* не обязательно может быть заранее установленной. Например, для анализа характеристики мутации в данном сайте проводят аланин-сканирующий или случайный мутагенез в кодоне-мишени и участке-мишени и экспрессированные варианты антитела подвергают скринингу на требуемую активность.

Вставки аминокислотных последовательностей включают амино-("N") и карбокси-("C") концевые слитые участки, варьирующие по длине от одного остатка до полипептидов, содержащих сто или более аминокислотных остатков, а также находящиеся внутри последовательностей вставки из одного или множества аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым остатком метионина или антитело, слитое с цитотоксическим полипептидом. Другие вставочные варианты молекулы антитела включают слияние с N- или C-концом антитела фермента или полипептида, что увеличивает период полувыведения антитела из сыворотки.

Другой тип варианта представляет собой вариант, основанный на замене аминокислотных остатков. В этих вариантах по меньшей мере один аминокислотный остаток в молекуле антитела заменен на другой остаток. Сайты, представляющие наибольший интерес для осуществления замещающего мутагенеза, включают гипervариабельные области, но рассматриваются также перестройки FR. Консервативные замены приведены в табл. В под заголовком "предпочтительные замены". Если такие замены приводят к изменению биологической активности, то они являются более значимыми изменениями и приведены в табл. В под заголовком " типовые замены", или могут быть введены и продукты подвергнуты скринингу, как дополнительно описано ниже по отношению к классам аминокислот.

Таблица В
Аминокислотные замены

Исходный остаток	Типовые замены	Предпочтительные замены
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; asp, lys; arg	gln
Asp (D)	glu; asn	glu
Cys (C)	ser; ala	ser
Gln (Q)	asn; glu	asn
Glu (E)	asp; gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe; норлейцин	leu
Leu (L)	норлейцин; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	Ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; норлейцин	leu

Существенные модификации биологических свойств антител сопровождаются избирательными заменами, которые значительно различаются по способности поддерживать (а) структуру полипептидного остова в области замены, например, складчатую или спиральную конформацию, (б) заряд или гидрофобность молекулы в сайте-мишени и (с) размеры боковой цепи. Остатки природного происхождения подразделяются на группы в зависимости от общих свойств боковых цепей:

- (1) гидрофобные: норлейцин, met, ala, val, leu, ile;
- (2) нейтральные гидрофильные: cys, ser, thr;
- (3) кислотные: asp, glu;
- (4) основные: asn, gln, his, lys, arg;
- (5) остатки, влияющие на ориентацию цепи: gly, pro; and
- (6) ароматические: trp, tyr, phe.

Неконсервативные замены включают замену представителя одного из этих классов на другой класс.

Цистеиновые остатки, которые не вовлечены в поддержание надлежащей конформации антитела, также могут быть замещены в основном серином, для усиления устойчивости молекулы к окислению и предотвращения аномального перекрестного сшивания. Напротив, в молекулу антитела можно вводить цистеиновую связь(и) для улучшения ее стабильности (особенно в тех случаях, когда антитело представляет собой фрагмент антитела, такой как фрагмент Fv).

Особенно предпочтительный тип варианта, полученного путем замены, включает замену одного или более остатков гипервариабельных участков исходного антитела (например, гуманизированного антитела или антитела против сортина человека). Как правило, полученный вариант(ы), отобранные для дальнейшей модификации, будут иметь улучшенные биологические свойства по отношению к исходному антителу, из которого они получены. Подходящий способ получения таких вариантов, полученных путем замены, включает аффинное созревание с использованием фагового дисплея. Коротко говоря, несколько сайтов гипервариабельных участков (например, 6-7 сайтов) подвергают мутагенезу с получением всех возможных аминокислотных замен в каждом сайте. Полученные таким образом варианты антитела отображают в моновалентной форме на поверхности частиц нитчатого бактериофага в виде их слияний с продуктом гена III бактериофага M13, упакованного в каждой частице. Фаговодисплейные варианты затем подвергают скринингу на их биологическую активность (например, аффинность связывания), как описано в данном документе. Для того чтобы идентифицировать возможные сайты модификации гипервариабельных участков, можно осуществлять аланин-сканирующий мутагенез, позволяющий идентифицировать остатки гипервариабельных участков, которые в значительной степени обеспечивают связывание антигена. В альтернативном варианте или дополнительно может оказаться полезным проанализировать кристаллическую структуру комплекса антиген-антитело для того, чтобы идентифицировать точки контакта между антигеном и антителом (например, белок сортина по настоящему описанию). Такие контактирующие остатки и соседние остатки являются потенциальными мишенями для замены, согласно методикам, представленным в данном документе. После создания таких вариантов их набор подвергают скринингу, как описано в данном документе, и антитела с улучшенными свойствами, как это устанавливается в одном или более соответствующих исследованиях, можно отбирать для дальнейшей модификации.

Другой тип аминокислотного варианта антитела изменяет первоначальный профиль гликозилирования антитела. Под изменением подразумевается удаление одного или более углеводных фрагментов,

обнаруженных в антителе, и/или добавление одного или более сайтов гликозилирования, которые отсутствуют у антитела.

Гликозилирование антител обычно является N-связанным или O-связанным. N-связанное гликозилирование относится к присоединению углеводного фрагмента к боковой цепи остатка аспарагина. Трипептидные последовательности аспарагин-X-серин и аспарагин-X-треонин, где X - любая аминокислота, кроме пролина, представляют собой распознаваемые последовательности для ферментативного присоединения углеводного фрагмента к боковой цепи аспарагина. Таким образом, присутствие любой из этих трипептидных последовательностей в полипептиде создает потенциальный сайт гликозилирования. O-связанное гликозилирование относится к присоединению одного из сахаров, N-ацетилгалактозамина, галактозы или ксилозы, к гидроксикарбоксилату, чаще всего к серину или треонину, хотя также могут использоваться 5-гидроксипролин или 5-гидроксиллизин.

Добавление сайтов гликозилирования к антителу удобно осуществлять путем изменения аминокислотной последовательности так, чтобы она содержала одну или более из вышеописанных трипептидных последовательностей (для N-связанных участков гликозилирования). Изменение также может быть сделано добавлением, заменой одного или более остатков серина или треонина в последовательности исходного антитела (сайты O-связанного гликозилирования).

Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие варианты аминокислотных последовательностей антитела против IgE, получают с помощью разнообразных способов, известных в данной области техники. Такие способы включают, но не ограничиваются ими, выделение из природных источников (в случае вариантов аминокислотных последовательностей природного происхождения) или получение с помощью опосредованного олигонуклеотидами (или сайт-специфического) мутагенеза, мутагенеза с помощью ПЦР и с помощью каскадного мутагенеза ранее полученных вариантных или невариантных вариантов антител (например, антител против сортилина по настоящему описанию) или фрагментов антител.

(11) Другие модификации антител.

Антитела против сортилина по настоящему описанию, или их фрагменты, можно дополнительно модифицировать, внедряя в них дополнительные небелковые фрагменты, легкодоступные и известные в данной области техники. Предпочтительно фрагменты, пригодные для получения производных антитела, представляют собой водорастворимые полимеры. Неограничивающие примеры водорастворимых полимеров включают полиэтиленгликоль (ПЭГ), сополимеры этиленгликоля/пропиленгликоля, карбоксиметилцеллюлозу, декстран, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, поли-1,3-диоксолан, поли-1,3,6-триоксан, сополимер этилена/малеинового ангидрида, полиаминокислоты (гомополимеры или случайные сополимеры) и декстран- или поли(п-винилпирролидон)полиэтиленгликоль, гомополимеры полипропиленгликоля, сополимеры полипропиленоксида/этиленоксида, полиоксиэтилированные полиолы (например, глицерин), поливиниловый спирт и их смеси, но не ограничиваются ими. Пропионовый альдегид полиэтиленгликоля может обладать преимуществами при производстве из-за его стабильности в воде. Указанный полимер может обладать любой молекулярной массой и быть разветвленным или неразветвленным. Число полимеров, присоединенных к антителу, может изменяться и, в случае присоединения более одного полимера, они могут представлять собой одинаковые или разные молекулы. В целом, количество и/или тип полимеров, применяемых для получения производных, можно определять с учетом факторов, включающих конкретные свойства или функции антитела, подлежащего улучшению, возможность применения производных антитела в терапии при определенных условиях и т.д., но не ограничивающихся этим. Такие методики и другие подходящие композиции раскрыты в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Alfonso Gennaro, Ed., Philadelphia College of Pharmacy and Science (2000).

Анализ связывания и другие анализы.

Антитела против сортилина по настоящему описанию можно исследовать на антигенсвязывающую активность, например, с помощью таких известных способов, как ELISA, поверхностный плазмонный резонанс (ППР), вестерн-блоттинг, и т.д.

В некоторых вариантах реализации изобретения можно применять конкурентный анализ для идентификации антитела, конкурирующего с любым из антител, перечисленных в табл. 1-3 и 11-15, или выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83,

S-84 и S-85. В некоторых вариантах реализации изобретения такое конкурирующее антитело связывается с таким же эпитопом (например, линейным или конформационным эпитопом), который связывается любым из антител, перечисленных в табл. 1-3 и 11-15 или выбранных из S-1, S-2, S-2-1, S-2-2, S-2-3, S-2-4, S-2-5, S-2-6, S-2-7, S-2-8, S-2-9, S-2-10, S-2-11, S-2-12, S-2-13, S-2-14, S-2-15, S-3, S-4, S-5, S-6, S-7, S-8, S-9, S-10, S-11, S-12, S-13, S-14, S-15, S-15-1, S-15-2, S-15-3, S-15-4, S-15-5, S-15-6, S-15-6-1, S-15-6-2, S-15-6-3, S-15-6-4, S-15-6-5, S-15-6-6, S-15-6-7, S-15-6-8, S-15-6-9, S-15-6-10, S-15-6-11, S-15-6-12, S-15-6-13, S-15-7, S-15-8, S-15-9, S-15-10, S-15-10-1, S-15-10-2, S-15-10-3, S-15-10-4, S-15-10-5, S-15-10-6, S-15-10-7, S-15-10-8, S-15-10-9, S-15-10-10, S-15-10-11, S-15-10-12, S-15-10-13, S-15-10-14, S-15-10-15, S-15-10-16, S-15-10-17, S-15-10-18, S-15-10-19, S-15-10-20, S-15-10-21, S-15-11, S-15-12, S-15-13, S-15-14, S-15-15, S-15-16, S-16, S-17, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-22-1, S-22-2, S-22-3, S-22-4, S-22-5, S-22-6, S-22-7, S-22-8, S-22-9, S-23, S-24, S-25, S-26, S-27, S-28, S-29, S-30, S-31, S-32, S-33, S-34, S-35, S-36, S-37, S-38, S-39, S-40, S-41, S-42, S-43, S-44, S-45, S-46, S-47, S-48, S-49, S-50, S-51, S-52, S-53, S-54, S-55, S-56, S-57, S-58, S-59, S-60, S-60-1, S-60-2, S-60-3, S-60-4, S-60-5, S-60-6, S-60-7, S-60-8, S-60-9, S-61, S-62, S-63, S-64, S-65, S-66, S-67, S-68, S-69, S-70, S-71, S-72, S-73, S-74, S-75, S-76, S-77, S-78, S-79, S-80, S-81, S-82, S-82-1, S-82-2, S-82-3, S-82-4, S-82-5, S-82-6, S-82-7, S-82-8, S-83, S-84 и S-85. Подробные типовые способы картирования эпитопа, с которым связывается антитело, представлены в Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ).

В типовом конкурентном анализе иммобилизованный сортилин или клетки, экспрессирующие сортилин на поверхности клетки, инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, связывающееся с сортилином (например, человека или не являющегося человеком примата), и второе немеченое антитело, исследуемое на предмет способности конкурировать с первым антителом за связывание с сортилином. Второе антитело может присутствовать в супернатанте гибридомы. В качестве контроля иммобилизованный сортилин или экспрессирующие сортилин клетки инкубируют в растворе, содержащем первое меченое антитело, но не содержащем второе немеченое антитело. После инкубирования в условиях, благоприятных для связывания первого антитела с сортилином, удаляют избыток несвязанного антитела и измеряют количество метки, связанной с иммобилизованным сортилином или экспрессирующими сортилин клетками. Если количество метки, связанной с иммобилизованным сортилином или экспрессирующими сортилин клетками, существенно снижается в исследуемом образце по сравнению с контрольным образцом, то это указывает на то, что второе антитело конкурирует с первым антителом за связывание с сортилином. См., Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

Анализы связывания лигандов.

Дополнительно в данном документе предложены способы скрининга антител против сортилина, связывающих Lys260, Phe314, Ser316, Ile329, Arg325, Arg326, Tyr351, Ser352 и/или Ile353 сортилина человека и блокирующих взаимодействия между сортилином и сортилиновым лигандом (например, програнулином, пронеуротрофином, pro-NGF, pro-BDNF, pro-NT3, p75, APP, LpL, APOA5, APOE). В некоторых вариантах реализации изобретения можно синтезировать библиотеку пептидов, в которой белок сортилин разрезан на последовательные пептиды в виде 15-мера и 25-мера, разделенные одним аминокислотным остатком и впоследствии нанесенные на фильтры. Затем можно исследовать связывание сортилинового лиганда на способность взаимодействовать с рецепторным пептидом или пептидами, которые, например, мутировали по Lys260, Phe314, Ser316, Ile329, Arg325, Arg326, Tyr351, Ser352 и/или Ile353 из библиотек сортилина человека в присутствии или отсутствии антител против сортилина анализом связывания SPOT (например, Frank, R and Overwin, H (1996) *Methods. Mol. Biol.* 66, 149-169; Reineke, U et al., (2002) *J. Immunol. Methods* 267, 13-26; и Andersen, OS et al., (2010) *J. BIOLOGICAL CHEMISTRY* 285, 12210-12222). В некоторых вариантах реализации изобретения библиотеки пептидов для представителей семейства генов рецепторного VPS10p-домена или специфических вариаций пептидов относительно анализов замены или длины идентифицированных пептидов, связывающих лиганды, можно конструировать на целлюлозной мембране. В некоторых вариантах реализации изобретения для репрезентации семейства сортилиновых генов можно использовать всего 2181 пептидов, включая 273 пептидов для сортилина (№ доступа CAA66904), с 13-аминокислотами, перекрывающимися между пептидами в виде 16-мера (Frank, R (1992) *Tetrahedron* 48, 9217-9232). В некоторых вариантах реализации изобретения целлюлозную подложку можно готовить в виде мембраны с N-модифицированной аминоксипропиловым простым эфиром целлюлозы, и все циклы синтеза начинаются с определения точки роста с участием 9-флуоренил-метоксикарбонилаланин-пентафторфенилового сложного эфира, который создает аланиновый линкер между пептидом и мембраной. Например, для растущей пептидной цепи можно проводить автоматизированный линейный синтез из пошагового добавления различных аминокислот, защищенный по их N-концу 9-флуоренил-метоксикарбонил и соответствующей защитой боковой цепи. В некоторых вариантах реализации изобретения профиль снятия защиты, активации и связывания продолжают до получения пептидов в виде 16-меров, обеспечивая в результате равномерно распределенный набор массив ковалентно закрепленных с целлюлозной подложкой пептидов по их C-терминальным концам со свободными N-терминальными концами (Scharn, D et al., (2000) *J. Comb. Chem.* 2, 361-369). В некоторых вариантах реализации изобретения удаление боковой защитной группы можно осуществлять в два этапа.

Во-первых, мембрану можно обрабатывать 90% трифторуксусной кислотой (в дихлорметане, содержащем 3% триизобутилсилана и 2% H₂O); а во-вторых, например, 60% трифторуксусной кислотой (в дихлорметане, содержащем 3% триизобутилсилана и 2% H₂O). Для удаления солей трифторуксусной кислоты мембрану можно промывать несколько раз H₂O, этанолом, Tris-буференным солевым раствором и этанолом, а затем высушивать. Наконец, мембрану блокируют в блокирующем буфере, разбавленном Tris-буференным солевым раствором (pH 8, 0) с добавкой 5% сахарозы в течение 2 часов перед готовностью заданной библиотеки пептидов для анализа связывания лигандов. В некоторых вариантах реализации изобретения для исследований связывания пептиды, связанные с целлюлозой, результаты сканирования библиотеки, связанные с мембраной, инкубируют с объединенными лигандами, маркированными S-пептидом и полигистидином, в присутствии или отсутствии антител против сортилина, например, в блокирующем буфере в течение ночи при 4°C, с последующей второй инкубацией с 1 мг/мл конъюгированного с HRP S-протеина также в блокирующем буфере, но в течение 3 ч при комнатной температуре. Впоследствии мембрану можно промывать, например, три раза в течение 10 мин Tris-буференным солевым раствором перед проведением количественного определения параметров связывания лиганда с использованием хемилюминесцентного субстрата UptiLight и прибора Lumilmager, получая интенсивности сигнала пятен в световых единицах Берингера. В альтернативном варианте выявление связанного лиганда можно выполнять иммунохимическим анализом с антителом против гистидиновой метки и вторичного конъюгированного с HRP антимышинного антитела. Инкубации можно выполнять с использованием стандартных процедур вестерн-блоттинга и выявления пятен.

Дополнительно в данном документе предложены способы скрининга антител против сортилина, блокирующих взаимодействия (например, связывание) между сортилином и сортилиновым лигандом (например, програнулином, пронеиротрофином, pro-NGF, pro-BDNF, pro-NT3, p75, APP, LpL, APOA5, APOE).

В некоторых вариантах реализации изобретения для каждого белка, позволяющего добавление N-концевого S-пептида и полигистидиновых меток, можно готовить конструкции в виде меченых формы сортилиновых лигандов для выявления. Матричную кДНК для NGF и BDNF человека, включающую клоны ATCC, использовали для создания фрагментов с перекрывающимися остатками Glu¹-Arg¹⁰² из NGF и Ala¹-Arg¹¹⁰ из BDNF с использованием пары праймеров 5'-GGTATTGAGGGTCGCGAACCACACTCAGAGAGCAATGTCCC-3' (SEQ ID NO: 695) и 3'-GGGGGAAGTTGTCTGAGTGTCTCGTTCGCCACTCCGAG ATTGAGAGGAGA-5' (SEQ ID NO: 696); и пары праймеров 5'-GGTATTGAGGGTCGCGC CCCCATGAAAGAAGCAAACAT CCGAGG-3' (SEQ ID NO: 697) и 3'-CACGTTTGTAC AGGTACTCCCAGGCCGCGACTCCGAGATTGA GAGGAGA-5' (SEQ ID NO: 698). Данная кДНК может включать совместимые липкие концы для независимого от лигирования клонирования в векторе pET-30 Xa/LIC и амплификации с использованием ДНК-полимеразы Phusion, следуя протоколу, предоставленному производителем. Белки можно экспрессировать в штамме BL21/DE3 Escherichia coli, эффективно экстрагируемые из бактериальных телец включения с использованием реагента Bugbuster с добавленной бензоназой, и очищать стандартной аффинной хроматографией с никель-нитрилукусусной кислотой, например, в 500 mM NaCl, 5 mM имидазоле и 20 mM Tris-HCl, pH 8,0. Элюцию белков выполняют в буферном растворе с добавкой 20 mM ЭДТК. Верификацию интактных меченых вариантов HisS-NGFpro и HisS-BDNFpro можно осуществлять анализом с ДСН-ПААГ-электрофорезом с последующим окрашиванием Кумасси или анализом вестерн-блоттинга с использованием либо антитела против гистидиновой метки от Sigma (H-1029) и вторичным связанным с HRP антимышинным антителом или, в альтернативном варианте, прямым связыванием конъюгированного с HRP S-белка от Novagen (№ по каталогу 69047-3) (например, Andersen, OS et al., P (2010) THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 285, 12210-12222). Сходные способы также можно применять для получения GST-маркированных сортилиновых лигандов (например, Quistgaard, EM et al., (2009) Nat. Struct. Mol. Biol. 16, 96-98).

В некоторых вариантах реализации изобретения взаимодействие между сортилином и сортилиновым лигандом (например, програнулином, пронеиротрофином, pro-NGF, pro-BDNF, pro-NT3, p75, APP, LpL, APOA5, APOE) можно охарактеризовать с использованием анализа поверхностного плазмонного резонанса (например, Skeldal, S et al., (2012) J Biol Chem., 287: 43798; и Andersen, OS et al., (2010) THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 285, 12210-12222). Определение непосредственного связывания сортилинового лиганда иммобилизованным сортилином в присутствии или отсутствии блокирующих антител против сортилина можно выполнять, например, на приборе Biacore2000 (Biacore, Швеция) с использованием CaHBS в качестве стандартного подвижного буфера (10 mM HEPES, pH 7, 4, 140 mM NaCl, 2 mM CaCl₂, 1 mM EGTA и 0,005% Tween 20). В некоторых вариантах реализации изобретения можно активировать биосенсорный чип из Biacore (CM5) с использованием способа NHS/EDC с последующим покрытием сортилином до плотности белка 79 фмоль/мм² и применять измерение аффинности рекомбинантных продоменов NGF, BDNF и NT3. После процедуры уравнивания будет следовать подготовка поверхности биосенсора с помощью просортилина. Регенерацию проточной ячейки после каждого цикла эксперимента определения связывания лигандов можно осуществлять двумя импульсными введениями по 10 мкл регенерирующего буфера (10 mM глицин-HCl, pH 4, 0, 500 mM NaCl, 20 mM

ЭДТК и 0,005% Tween 20) и одним введением 0,001% ДСН. Подбор сенсограмм для оценки аффинности можно выполнять, например, используя BIAevaluation, версия 3. 1. После сходных протоколов можно также проводить иммобилизацию HisS-NGFpro или HisS-BDNFpro на биосенсорном чипе CM5 с использованием набора для связывания NHS/EDC, давая сходные плотности иммобилизованного белка на поверхности (~ 300 фмоль/мм²). Биосенсорный чип с иммобилизованным NGFpro или BDNFpro также можно использовать для проверки связывания сортина в отсутствие или присутствие конкурирующих антител к сортину. Также можно применять непротесированные варианты pro-NGF и pro-BDNF, а также другой сортиновый лиганд (например, связанный с рецептором белок (RAP), нейротензин, програнулин, p75, LpL, APOA5, APOE или APP) для иммобилизованного сортина и можно измерять связывание в отсутствие или присутствие конкурирующих антител.

В некоторых вариантах реализации изобретения взаимодействие между сортином и сортиновым лигандом (например, програнулином, пронеиротрофином, pro-NGF, pro-BDNF, pro-NT3, p75, APP, LpL, APOA5, APOE) можно охарактеризовать с использованием анализа pulldown (например, Andersen, OS et al., (2010) THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 285, 12210-12222). Например, экспрессированные внеклеточные домены сортина можно инкубировать с мечеными сортиновыми лигандами в отсутствие или присутствие блокирующих сортин антител и осаждать с использованием 100 мкл сефарозных гранул с глутатионом (GSH) (Amersham Biosciences, № по каталогу 17-0756-01). Количество используемых рецепторных доменов можно определять путем осаждения с использованием в качестве контроля гранул Talon. Связанные белки можно отделять анализом ДСН-ПААГ-электрофореза и визуализировать с использованием антитела против гистидина стандартным анализом Вестерн-блоттинга.

В некоторых вариантах реализации изобретения взаимодействие между сортином и сортиновым лигандом (например, програнулином, пронеиротрофином, pro-NGF, pro-BDNF, pro-NT3, p75, APP, LpL, APOA5, APOE) можно охарактеризовать с использованием связанных с целлюлозой белков (например, Andersen, OS et al., (2010) THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 285, 12210-12222). Например, мембраносвязанные белки можно инкубировать с S-пептидом и полигистидиновым маркером pro-NGF, pro-BDNF, програнулином или другим сортиновым лигандом, таким как програнулин, пронеиротрофин, pro-NT3, p75, APP, LpL, APOA5 или APOE; в блокирующем буфере в течение ночи при 4°C, с последующей второй инкубацией с 1 мкг/мл конъюгированного с HRP S-белка также в блокирующем буфере, но в течение 3 ч при комнатной температуре. Впоследствии мембрану можно промывать три раза в течение 10 мин Tris-забуференным солевым раствором перед проведением количественного определения параметров связанного лиганда с использованием хемилюминесцентного субстрата UptiLight и прибора LumiImager, получая интенсивности сигнала пятен в световых единицах Берингера. В альтернативном варианте выявление связанного лиганда можно выполнять иммунохимическим анализом с антителом против гистидиновой метки и вторичного конъюгированного с HRP антимышинного антитела. После инкубации могут следовать стандартный анализ вестерн-блоттинга и выявления пятен.

В некоторых вариантах реализации изобретения взаимодействие между сортином и сортиновым лигандом (например, програнулином, пронеиротрофином, pro-NGF, pro-BDNF, pro-NT3, p75, APP, LpL, APOA5, APOE) можно охарактеризовать с использованием анализа определения близости лигирования (например, Gustafsen, C et al., (2013) The Journal of Neuroscience, 33: 64-71). Например, анализ определения близости лигирования (PLA) (DuolinkII) на клетках, экспрессирующих или подвергающихся действию сортина и его партнера связывания, можно выполнять с первичными антителами анти-сортин/F11, анти-SorLA/20C11 и антителами против партнера связывания, такими как анти-APP/AF1168 антитела, после инкубации со вторичными антителами, конъюгированными с олигонуклеотидами, которые впоследствии гибридизируются с образующими кольца олигонуклеотидами и иницируют амплификацию по типу катящегося кольца, когда антигены расположены в пределах близости 40 нм. Амплифицированную ДНК можно визуализировать добавлением комплементарных флуоресцентно меченых олигонуклеотидов.

В некоторых вариантах реализации изобретения взаимодействие между сортином и сортиновым лигандом (например, програнулином, пронеиротрофином, pro-NGF, pro-BDNF, pro-NT3, p75, APP, LpL, APOA5, APOE) можно охарактеризовать с использованием меченых щелочной фосфатазой лигандов в анализе со связыванием клеток (например, Hu, F et al., (2005) J. Neurosci. 25, 5298-5304; Fournier, AE et al., (2001) Nature 409, 341-346; Lauren, J et al., (2009) Nature 457, 1128-1132; and Hu, F et al., (2010) Neuron 68, 654-667). Например, меченые щелочной фосфатазой (AP) лиганды можно получать для оценки сортина на трансфицированных клетках или первичных нейронах. Для выявления связывания меченых AP лигандов с клетками, экспрессирующими сортин, культуры промывают, например, сбалансированным раствором Хэнкса, содержащим 20 мМ HEPES-натрия, pH 7,05 и 1 мг мл⁻¹ бычьего сывороточного альбумина (BSA) (HBN). Затем планшеты можно инкубировать с мечеными AP лигандами в присутствии или отсутствии блокирующих сортин антител, например, в HBN в течение 2 ч при 23°C. Связанный с AP лиганд можно выявлять и количественно определять в соответствии со способом, хорошо известным в данной области техники.

Анализы на основе клеток.

Дополнительно в данном документе предложены методы скрининга на наличие антагониста связывания сортилина, такого как антитела против сортилина, которые включают приведение в контакт агента (например, антитела против сортилина) с клеткой, экспрессирующей белок сортилин на своей клеточной поверхности. В некоторых вариантах реализации изобретения агент и клетка дополнительно приведены в контакт с сортилиновым лигандом по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка сама по себе экспрессирует сортилиновый лиганд по настоящему описанию. Методы на основе клеток, в частности, подходят для скрининга и валидации антагонистов связывания сортилина (например, антител против сортилина) путем оценки влияния взаимодействия между сортилином и сортилиновым лигандом в контексте клетки.

Соответственно, определенные аспекты по настоящему описанию относятся к экспрессии клеткой белка сортилина по настоящему описанию на своей клеточной поверхности. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка эндогенно экспрессирует белок сортилин по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка рекомбинантно сконструирована для экспрессии белка сортилина по настоящему описанию. В любом из этих вариантов реализации изобретения белок сортилин по настоящему описанию (либо эндогенный, либо рекомбинантный), кодируемый полинуклеотидом, предпочтительно будет включать по меньшей мере белковые домены, требующиеся для посттрансляционного процессинга, мембранной транслокации и нацеливания на клеточную поверхность, включая, без ограничения, сигнальный пептид и трансмембранный домен. В некоторых вариантах реализации изобретения сигнальный пептид и/или трансмембранный домен могут относиться к эндогенному сортилиновому сигнальному пептиду и/или трансмембранному домену. В других вариантах реализации изобретения сигнальный пептид и/или трансмембранный домен могут относиться к экзогенному сигнальному пептиду и/или трансмембранному домену, которые, как известно, способствуют экспрессии на клеточной поверхности в требуемой клетке-хозяине. В предпочтительных вариантах реализации изобретения белок сортилин будет также содержать домен, необходимый для связывания сортилинового лиганда по настоящему описанию.

Стандартные методики молекулярной биологии хорошо известны в данной области техники, такие как описанные и упоминаемые в настоящем описании, можно применять со сконструированными рекомбинантными методами клетками (например, клетки-хозяева по настоящему описанию) для экспрессии белка сортилина по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения методы включают культивирование клетки-хозяина по настоящему описанию, содержащей полинуклеотид, кодирующий белок сортилин по настоящему описанию, в условиях, пригодных для экспрессии данного антитела.

Для рекомбинантной продукции белка сортилина по настоящему описанию выделяют нуклеиновую кислоту, кодирующую белок сортилин, и вставляют ее в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такую нуклеиновую кислоту можно легко выделять и секвенировать с использованием общепринятых процедур (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, способных специфически связываться с генами, кодирующими белок сортилин).

Подходящие векторы, содержащие нуклеотидную последовательность, кодирующую сортилиновые белки по настоящему описанию или их фрагменты, экспрессируемые на клеточной поверхности, описанные в данном документе, включают, без ограничения, клонирующие векторы и экспрессионные векторы. Подходящие клонирующие векторы можно сконструировать в соответствии со стандартными методиками или могут быть выбраны из большого числа клонирующих векторов, доступных в данной области техники. Хотя выбранный клонирующий вектор может варьировать в зависимости от клетки-хозяина, предназначенной для использования, подходящие клонирующие векторы обычно обладают способностью к саморепликации, могут иметь одну мишень для конкретной рестрикционной эндонуклеазы и/или могут нести гены для маркера, который может быть использован при отборе клонов, содержащих вектор. Подходящие примеры включают плазмиды и бактериальные вирусы, например, pUC18, pUC19, Bluescript (например, pBS SK+) и их производные, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, фаговые ДНК и челночные векторы, такие как pSA3 и pAT28. Эти и многие другие клонирующие векторы доступны у коммерческих поставщиков, таких как BioRad, Stratagene и Invitrogen.

Экспрессионные векторы, как правило, представляют собой реплицируемые полинуклеотидные конструкции, которые содержат нуклеиновую кислоту по настоящему описанию. Экспрессионный вектор может реплицироваться в клетках-хозяевах в виде эписомы или в качестве неотъемлемой части хромосомной ДНК. Подходящие экспрессионные векторы включают, но не ограничиваются ими, плазмиды, вирусные векторы, включая аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, ретровирусы, космиды и экспрессионный(ые) вектор(ы), раскрытые в публикации РСТ №WO 87/04462. Векторные компоненты, в целом, могут включать, но не ограничиваются ими, одно или более из следующих: сигнальную последовательность; точку начала репликации; один или более маркерных генов; подходящие элементы контроля транскрипции (такие как промоторы, энхансеры и терминатор). Для экспрессии (т.е. трансляции) обычно также необходимы один или более регуляторных элементов трансляции, такие как сайты связывания рибосом, сайты инициации трансляции и стоп-кодоны.

Векторы, содержащие интересующие нуклеиновые кислоты можно вводить в клетку-хозяина лю-

бым из ряда подходящих способов, включая электропорацию, трансфекцию с использованием хлорида кальция, хлорида рубидия, фосфата кальция, DEAE-декстрана или других веществ; бомбардировку микрочастицами; липофекцию и инфекцию (например, когда вектор является инфекционным агентом, таким как вирус осповакцины). Выбор вводимых векторов или полинуклеотидов часто зависит от особенностей клетки-хозяина. В некоторых вариантах реализации изобретения вектор содержит нуклеиновую кислоту, содержащую одну или более аминокислотных последовательностей, кодирующих белок сортилин по настоящему описанию.

Подходящие клетки-хозяева для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитело, включают прокариотические клетки. В предпочтительных вариантах реализации изобретения клетка-хозяин по настоящему описанию представляет собой клетку млекопитающего, включая без ограничения, линию клеток CV1 почки обезьяны, трансформированную SV40 (COS-7); линию человеческих эмбриональных клеток почки (293 или клетки 293, описанные, например, в Graham et al, J. Gen Virol. 36: 59 (1977)); клетки почки новорожденного хомяка (BHK); мышинные клетки Сертоли (клетки ТМ4, описанные, например, в Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почки собаки (MDCK); клетки печени крысы линии Buffalo (BRL 3A); клетки легкого человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); клетки опухоли молочной железы мыши (MMT 060562); клетки TRI, описанные, например, в Mather et al., Annals N. Y. Acad. Sci. 383: 44-68 (1982); клетки MRC 5 и клетки FS4. Другие пригодные линии клеток-хозяев млекопитающих включают клетки яичника китайского хомяка (CHO), в том числе клетки DHFR- CHO (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980)) и миеломные клеточные линии, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. В некоторых вариантах реализации клетка-хозяин представляет собой клетку человека. В некоторых вариантах реализации клетка-хозяин представляет собой клетку HEK293T.

В дополнение к клеткам млекопитающих, подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитело, являются эукариотические микроорганизмы, например, мицелиальные грибы или дрожжи, в том числе штаммы грибов и дрожжей с "гуманизированными" путями гликозилирования, что приводит к продукции белка с профилем гликозилирования, частично или полностью характерным для человека (например, Gerngross, Nat. Biotech. 22: 1409-1414 (2004) и Li et al., Nat. Biotech. 24: 210-215 (2006)). Подходящие для экспрессии гликозилированного белка клетки-хозяева также могут происходить из организма многоклеточных организмов (беспозвоночных и позвоночных). Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых (например, клетки Sf9 или S2). Идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы, которые можно применять в сочетании с клетками насекомых, в частности, для трансфекции клеток *Spodoptera frugiperda*.

В некоторых вариантах реализации изобретения способы по настоящему описанию включают приведение в контакт клетки, экспрессирующей белок сортилин на своей клеточной поверхности с агентом (например, антителом против сортилина) и сортилиновым лигандом в условиях, в которых белок сортилин способен связываться с сортилиновым лигандом. Как используется в данном документе, условия, в которых белок сортилин способен связываться с сортилиновым лигандом, могут относиться к параметру или аспекту окружающей среды, в которой существует белок сортилин и сортилиновый лиганд (например, температура, pH, раствор и т.д.), и условия могут относиться к окружающей среде, в которой существует белок сортилин и сортилиновый лиганд (например, общая сумма из множества отдельных условий). Эти условия позволяют происходить взаимодействию сортилин-сортилиновый лиганд, описанному выше. В предпочтительных вариантах реализации изобретения эти способы также являются допустимыми для поддержания жизнеспособности клеток во временных рамках анализа.

В некоторых вариантах реализации изобретения сортилиновый лиганд присоединяют к флуорофору. Можно использовать флуорофор, известный в данной области техники. В некоторых вариантах реализации изобретения флуорофор может быть флуоресцентным белком или пептидом, включая без ограничения GFP, RFP, YFP, CFP, их производные и тому подобные белки. В некоторых вариантах реализации изобретения флуорофор может быть небелковым органическим флуорофором, включая без ограничения, производное ксантина (например, родамин, флуоресцин, техасский красный и т. п.), производным скварина, производное нафталина, производное цианина (например, цианин, индокарбоцианин, оксакрбоцианин и т. п.), производное кумарина, производное пирена, производное антрацена, производное оксадиазола, производное акридина, производное тетрапиррола, производное арилметина или производное оксазина. В некоторых вариантах реализации изобретения флуорофором может быть квантовая точка. Перечни подходящих флуорофоров и их свойства (например, спектры абсорбции и эмиссии, коэффициенты молярной экстинкции, свойства фотообесцвечивания, яркости, фотостабильности и т.д.) в большинстве случаев получают у производителей, например, The Molecular Probes® Handbook, 11th ed. (Life Technologies, г. Калсбад, штат Калифорния). В некоторых вариантах реализации изобретения сортилиновый лиганд присоединяют к нефлуоресцентному фрагменту для выявления, такому как люминесцентный или биолюминесцентный фрагмент (например, люцифераза, такая как люцифераза Renilla или ее производное), и дополнительно включают биолюминогенный субстрат (например, люциферин, такой как ко-

элентеразин или производное коэлентеразин, включая без ограничения DeepBlueC™).

В некоторых вариантах реализации изобретения флуорофор, присоединенный к сортилиновому лиганду, является ассоциированным с клеткой при связывании сортилинового лиганда с белком сортилином. Флуорофор, присоединенный к сортилиновому лиганду, может быть ассоциирован с клеткой, например, если он может быть выявлен на поверхности клетки и/или выявлен внутри клетки (например, в эндоцитном, эндосомном или лизосомном компартменте). Таким способом выявление излученной флуоресценции, связанной с клеткой (например, флуоресценции на поверхности клетки или внутри клетки) позволяет выявлять взаимодействие между сортилином и сортилиновым лигандом в контексте клетки, экспрессирующей сортилин. Предпочтительно, флуорофор сам по себе и флуорофор, присоединенный к сортилиновому лиганду, не нарушает связывание между сортилиновым лигандом и белком сортилином, экспрессируемым клеткой.

В некоторых вариантах реализации изобретения флуорофор, связанный с клеткой, облучают светом с длиной волны, достаточной чтобы вызывать эмиссию флуоресценции флуорофором. В некоторых вариантах реализации изобретения выявляют флуоресценцию, излучаемую флуорофором, связанным с клеткой. В некоторых вариантах реализации изобретения длина волны, достаточная чтобы вызывать эмиссию флуоресценции, находится внутри спектра поглощения флуорофора. В некоторых вариантах реализации изобретения длина волны, которой облучают клетку, является длиной максимума поглощения или максимума возбуждения. В некоторых вариантах реализации изобретения выявляемая длина волны находится внутри спектра излучения флуорофора. В некоторых вариантах реализации изобретения выявляемая длина волны представляет собой максимум излучения. Как неограничивающий пример, DyLight-650, присоединенный к програнулиновому белку по настоящему описанию, можно возбуждать при 652 нм, а излучаемую флуоресценцию можно выявлять при 672 нм. Информация о длинах волн света, достаточных чтобы вызывать излучение флуоресценции флуорофора по настоящему описанию, и длины волн света, излучаемых флуорофором легко доступны в данной области техники и обычно предоставляется производителем (например, Life Technologies, Pierce Biotechnology, Thermo Scientific, abcam и т.д.).

Можно применять любой подходящий метод выявления излученной флуоресценции при подходящей длине волны (например, длине волны, описанной выше). Методики выявления флуоресценции могут задействовать считывающее устройство для планшетов (например, считывающее устройство для планшетов PHERAstar от BMG LABTECH, г. Ортенберг, Германия), флуоресцентный микроскоп, проточный цитометр или любое другое оборудование, известное в данной области техники для флуоресцентного выявления.

В некоторых вариантах реализации изобретения флуорофор непосредственно связан с сортилиновым лигандом. В некоторых вариантах реализации изобретения сортилиновый лиганд связан с биотином, а флуорофор связан со стрептавидином, который присоедин к сортилиновому лиганду путем связывания с биотином. В данной области техники известны сходные методики присоединения донора/акцептора флуоресценции, флуорофор можно присоединять к сортилиновому лиганду путем прямого связывания или их можно опосредованно соединять через интермедиат (например, связывание антитела, связывание биотин: стрептавидин, маркер аффинности и т. п.). Например и без ограничения, если флуорофор представляет собой флуоресцентный белок, то сортилиновый лиганд можно транслировать с кодирующей последовательностью флуоресцентного белка, присоединенного (например, пептидным линкером), в рамках считывания с кодирующей последовательностью сортилинового лиганда, так что продуцируется гибридный белок. Например и без ограничения, если флуорофор представляет собой небелковый органический флуорофор, то флуорофор можно химически присоединять (например, посредством ковалентной связи) к сортилиновому лиганду. Наборы маркеров для присоединения флуорофора с интересующим белком (например, сортилиновым лигандом по настоящему описанию) коммерчески доступны и обычно используют химическую реакцию между первичным амином белка и аминокислотной последовательности сортилинового лиганда. Как правило, флуоресцентный белок можно присоединять к N- или C-концу сортилинового лиганда.

В некоторых вариантах реализации изобретения клетку, экспрессирующую белок сортилин на своей клеточной поверхности, приводят в контакт с агентом (например, антителом против сортилина) и сортилиновым лигандом в условиях, в которых белок сортилин способен связываться с сортилиновым лигандом, причем сортилиновый лиганд присоединен к флуорофору, а флуорофор оказывается ассоциирован с клеткой при связывании сортилинового лиганда с белком сортилином. Флуорофор, ассоциированный с клеткой, облучают светом с длиной волны, достаточной чтобы вызывать излучения флуорофором флуоресценции; и выявляют уменьшение флуоресценции, излучаемой ассоциированным с клеткой флуорофором, по сравнению с флуоресценцией, излучаемой флуорофором, ассоциированным с клеткой в отсутствии агента. Уменьшение излученной флуоресценции указывает, что агент является связывающим сортилин антагонистом. Не привязываясь к какой-либо теории, считается, что взаимодействие между белком сортилином по настоящему описанию, экспрессируемому на поверхности клетки и сортилино-

вым лигандом по настоящему описанию, меченому флуорофором по настоящему описанию будет приводить к выявляемой флуоресценции, ассоциированной с клеткой (например, на поверхности клетки и/или во внутреннем пространстве клетки, если сортилиновый лиганд интернализован клеткой). Считается, что антагонист связывания сортилина уменьшает сигнал флуоресценции, излучаемый флуорофором, ассоциированным с клеткой, путем снижения этого взаимодействия.

В некоторых вариантах реализации изобретения используется анализ на основе клетки, который осуществляется без излучаемой флуоресценции. Например, в некоторых вариантах реализации изобретения клетку, экспрессирующую белок сортилин на своей клеточной поверхности, приводят в контакт с агентом (например, антителом против сортилина) и сортилиновым лигандом в условиях, в которых белок сортилин способен связываться с сортилиновым лигандом; и выявляется отсутствие уменьшения уровня сортилинового лиганда по сравнению с уменьшением уровня сортилинового лиганда в отсутствие данного агента. Отсутствие уменьшения уровня сортилинового лиганда указывает, что агент является связывающим сортилин антагонистом. Не привязываясь к какой-либо теории, считается, что приведение в контакт экспрессирующей сортилин клетки с сортилиновым лигандом по настоящему описанию приводит к уменьшению внеклеточного сортилинового лиганда посредством связывания сортилина, эндоцитоза и лизосомной деградации. Считается, что инкубирование экспрессирующей сортилин клетки с определенным уровнем сортилинового лиганда будет приводить к уменьшению сортилинового лиганда с течением времени, и что антагонист связывания сортилина по настоящему описанию (например, антитело против сортилина) способен снижать это уменьшение (например, неспособность уменьшать). Таким образом, по сравнению с контрольной обработкой, обработка антагонистом связывания сортилина по настоящему описанию приводит к отсутствию уменьшения сортилинового лиганда.

В этих вариантах реализации изобретения может применяться любая клетка, экспрессирующая белок сортилин по настоящему описанию на своей клеточной поверхности. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка эндогенно экспрессирует на своей клеточной поверхности белок сортилин по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка рекомбинантно сконструирована для экспрессии на своей клеточной поверхности белка сортилина по настоящему описанию. Можно использовать любой подходящий сортилиновый лиганд по настоящему описанию, такой чтобы сохранялась способность связываться с белком сортилином, экспрессируемым на клеточной поверхности. Сортилиновый лиганд не требует наличия флуоресцентной метки. Уровни сортилинового лиганда можно выявлять любым анализом, известным в данной области техники, включая без ограничения, ELISA, ППР, вестерн-блоттинг, масс-спектрометрию, иммунопреципитацию, пептидный микрочип и т.д.

В некоторых вариантах реализации изобретения клетку, которая экспрессирует на своей клеточной поверхности белок сортилин по настоящему описанию, культивируют в среде для культивирования клеток, содержащей уровень сортилинового лиганда по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения к среде для культивирования клеток добавляют известное количество сортилинового лиганда. В некоторых вариантах реализации изобретения можно использовать кондиционированную среду для культивирования клеток, например, в которой сортилиновый лиганд по настоящему описанию экспрессируется и секретируется в среду для культивирования клеток продуцирующей сортилиновый лиганд клеткой (причем кондиционированный сортилиновым лигандом среду для культивирования клеток отделяют от продуцирующей сортилиновый лиганд клетки и впоследствии добавляют к клетке, экспрессирующей белок сортилин).

Может применяться любая среда для культивирования клеток, пригодная для культивирования клетки, экспрессирующей на своей клеточной поверхности белок сортилин по настоящему описанию. Среда для культивирования клеток, пригодные для культивирования множества типов клеток известны в данной области техники и доступны для приобретения. Для культивирования клетки, экспрессирующей белок сортилин по настоящему описанию, могут подходить доступные для приобретения среды, например, среда Хэма F10 (Sigma), минимальная поддерживающая среда ((MEM) (Sigma), RPMI-1640 (Sigma) и среда Игла, модифицированная по Дульбекко ((DMEM), Sigma). Кроме того, в качестве среды для культивирования можно использовать любую среду, описанную в Ham et al., Meth. Enz. 58: 44 (1979), Barnes et al., Anal. Biochem. 102: 255 (1980), патент США № 4767704; 4657866; 4927762; 4560655 или 5122469; WO 90/03430; WO 87/00195; или патент США Re. 30985. В любую из этих сред при необходимости можно добавлять соли (например, хлорид натрия, соли кальция, магния и фосфаты), буферы (например, HEPES), факторы роста или гормоны (например, инсулин или фактор роста эпидермиса), нуклеотиды, антибиотики, микроэлементы (определяемые как неорганические соединения, обычно присутствующие в конечных концентрациях, находящихся в микромолярном диапазоне), глюкозу и/или соответствующий источник энергии. В среду также можно включать любые другие необходимые добавки в соответствующих концентрациях, известных специалистам в данной области техники. Такие условия культивирования, как температура, pH и т. п., совпадают с условиями, использованными ранее при культивировании клетки-хозяина, выбранной для экспрессии, и очевидны для среднего специалиста в данной области техники.

В некоторых вариантах реализации изобретения описанные в данном документе способы включают культивирование клетки, экспрессирующей на своей клеточной поверхности как белок сортилин, так и

сортитиновый лиганд в среду, в условиях, в которых экспрессируются белок сортилин и сортитиновый лиганд, а сортитиновый лиганд высвобождается в среду; приведение в контакт клетки с агентом (например, антителом против сортилина) в условиях, в которых белок сортилин способен связываться с сортитиновым лигандом; и выявление увеличения уровня сортитинового лиганда в среде по сравнению с уровнем сортитинового лиганда в среде в отсутствие данного агента. Увеличение уровня сортитинового лиганда указывает, что агент является связывающим сортилин антагонистом. Не привязываясь к какой-либо теории, авторы считают, что взаимодействие между белком сортилином, экспрессированным на клеточной поверхности, и секретированным сортитиновым лигандом будет приводить к эндоцитозу и лизосомной деградации сортитинового лиганда. Поэтому считается, что уменьшение этого взаимодействия (например, путем добавления антагонист связывания сортилина по настоящему описанию) приводит к увеличению уровня сортитинового лиганда в среде с течением времени.

В этих вариантах реализации изобретения может использоваться любая клетка, экспрессирующая на своей клеточной поверхности белок сортилин по настоящему описанию и секретирует сортитиновый лиганд по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка может эндогенно экспрессировать на своей клеточной поверхности белок сортилин по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка может эндогенно экспрессировать и секретировать сортитиновый лиганд по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка представляет собой клетку U-251, а сортитиновый лиганд представляет собой програнулиновый белок. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка может быть рекомбинантно сконструирована для экспрессии на своей клеточной поверхности белка сортилина по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка может быть рекомбинантно сконструирована для экспрессии и секретирования сортитинового лиганда по настоящему описанию.

В любых анализах на основе клеток, описанных в данном документе, может использоваться сортитиновый лиганд по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения сортитиновый лиганд представляет собой програнулиновый белок. Сортилиновый лиганд может быть полноразмерным белком, или он может быть фрагментом такого связывающего сортилин пептида.

Нуклеиновые кислоты, векторы и клетки-хозяева.

Антитела против сортилина по настоящему описанию можно получать с использованием рекомбинантных способов и композиций, например, как описано в патенте США № 4816567. В некоторых вариантах реализации изобретения предложены выделенные нуклеиновые кислоты, имеющие нуклеотидную последовательность, кодирующую любые антитела против сортилина по настоящему описанию. Такие нуклеиновые кислоты могут кодировать аминокислотную последовательность, содержащую VL и/или аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела против сортилина (например, легкую и/или тяжелую цепи антитела). В некоторых вариантах реализации изобретения предложены один или более векторов (например, экспрессионных векторов), содержащих такую нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах реализации изобретения также предложена клетка-хозяин, содержащая такую нуклеиновую кислоту. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка-хозяин содержит (например, была трансдуцирована): (1) вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела, или (2) первый вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую VL антитела, и второй вектор, содержащий нуклеиновую кислоту, кодирующую аминокислотную последовательность, содержащую VH антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения клетка-хозяин является эукариотической, например, клеткой яичника китайского хомяка (CHO) или лимфоидной клеткой (например, клеткой YO, NSO, Sp20).

Предложены способы получения антитела против сортилина по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения способ включает культивирование клетки-хозяина по настоящему описанию, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело против сортилина, в условиях, пригодных для экспрессии антитела. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело затем извлекают из клетки-хозяина (или культуральной среды клетки-хозяина).

Для рекомбинантной продукции антитела против сортилина по настоящему описанию выделяют нуклеиновую кислоту, кодирующую антитело против сортилина, и вставляют ее в один или более векторов для дальнейшего клонирования и/или экспрессии в клетке-хозяине. Такую нуклеиновую кислоту легко выделять и секвенировать с использованием общепринятых процедур (например, с использованием олигонуклеотидных зондов, способных специфически связываться с генами, кодирующими тяжелые и легкие цепи антитела).

Подходящие векторы, содержащие последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую любое из антител против сортилина по настоящему описанию или фрагменты их полипептидов (включая антитела), описанные в данном документе, включают без ограничения, клонирующие векторы и экспрессионные векторы. Подходящие клонирующие векторы можно сконструировать в соответствии со стандартными методиками или могут быть выбраны из большого числа клонирующих векторов, доступных в данной области техники. Хотя выбранный клонирующий вектор может варьировать в зависимости от клетки-хозяина, предназначенной для использования, подходящие клонирующие векторы обычно обла-

дают способностью к саморепликации, могут иметь одну мишень для конкретной рестрикционной эндонуклеазы и/или могут нести гены для маркера, который может быть использован при отборе клонов, содержащих вектор. Подходящие примеры включают плазмиды и бактериальные вирусы, например, pUC18, pUC19, Bluescript (например, pBS SK+) и их производные, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, фаговые ДНК и челночные векторы, такие как pSA3 и pAT28. Эти и многие другие клонирующие векторы доступны у коммерческих поставщиков, таких как BioRad, Stratagene и Invitrogen.

Экспрессионные векторы, как правило, представляют собой реплицируемые полинуклеотидные конструкции, которые содержат нуклеиновую кислоту по настоящему описанию. Экспрессионный вектор может реплицироваться в клетках-хозяевах в виде эписомы или в качестве неотъемлемой части хромосомной ДНК. Подходящие экспрессионные векторы включают, но не ограничиваются ими, плазмиды, вирусные векторы, включая аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, ретровирусы, космиды и экспрессионный(ые) вектор(ы), раскрытые в публикации РСТ № WO 87/04462. Векторные компоненты, в целом, могут включать, но не ограничиваются ими, одно или более из следующих: сигнальную последовательность; точку начала репликации; один или более маркерных генов; подходящие элементы контроля транскрипции (такие как промоторы, энхансеры и терминатор). Для экспрессии (т.е. трансляции) обычно также необходимы один или более регуляторных элементов трансляции, такие как сайты связывания рибосом, сайты инициации трансляции и стоп-кодоны.

Векторы, содержащие интересующие нуклеиновые кислоты можно вводить в клетку-хозяина любым из ряда подходящих способов, включая электропорацию, трансфекцию с использованием хлорида кальция, хлорида рубидия, фосфата кальция, DEAE-декстрана или других веществ; бомбардировку микрочастицами; липофекцию и инфекцию (например, когда вектор является инфекционным агентом, таким как вирус осповакцины). Выбор вводимых векторов или полинуклеотидов часто зависит от особенностей клетки-хозяина. В некоторых вариантах реализации изобретения вектор содержит нуклеиновую кислоту, содержащую одну или более аминокислотных последовательностей, кодирующих антитела против сортилина по настоящему описанию.

Пригодные клетки-хозяева для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитело, включают прокариотические или эукариотические клетки. Например, антитела против сортилина можно продуцировать в бактериях, в частности, если гликозилирование и эффекторные функции Fc не являются необходимыми. В отношении экспрессии фрагментов антитела и полипептидов в бактериях (например, патент США №5648237, 5789199 и 5840523; и Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), p. 245-254, описывают экспрессию фрагментов антитела в *E. coli*). После экспрессии антитело можно выделять из массы бактериальных клеток в растворимую фракцию, после чего дополнительно очищать.

В дополнение к прокариотам, подходящими хозяевами для клонирования или экспрессии векторов, кодирующих антитело, являются эукариотические микроорганизмы, например, мицелиальные грибы или дрожжи, в том числе штаммы грибов и дрожжей с "гуманизированными" путями гликозилирования, что приводит к продукции антитела с профилем гликозилирования, частично или полностью характерным для человека (например, Gerngross, *Nat. Biotech.* 22: 1409-1414 (2004) и Li et al., *Nat. Biotech.* 24: 210-215 (2006)).

Подходящие для экспрессии гликозилированного антитела клетки-хозяева могут также происходить от многоклеточных организмов (беспозвоночных и позвоночных). Примеры клеток беспозвоночных включают клетки растений и насекомых. Идентифицированы многочисленные бакуловирусные штаммы, которые можно применять в сочетании с клетками насекомых, в частности, для трансфекции клеток *Spartoptera frugiperda*. Кроме того, в качестве хозяев можно использовать культуры клеток растений (например, патент США №5959177, 6040498, 6420548, 7125978 и 6417429, где описана технология PLANTIBODIES™ относительно продукции антител в трансгенных растениях).

Кроме того, в качестве хозяев можно использовать клетки позвоночных. Например, можно использовать клеточные линии млекопитающих, адаптированные к росту в суспензии. К другим примерам пригодных линий клеток-хозяев млекопитающих относятся линия клеток CV1 почки обезьяны, трансформированная SV40 (COS-7); линия человеческих эмбриональных клеток почки (клетки 293 или 293, описанные, например, в Graham et al., *J. Gen. Virol.* 36: 59 (1977)); клетки почки новорожденного хомяка (BHK); мышинные клетки Сертоли (клетки TM4, описанные, например, в Mather, *Biol. Reprod.* 23: 243-251 (1980)); клетки почки обезьяны (CV1); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76); клетки карциномы шейки матки человека (HELA); клетки почки собаки (MDCK); клетки печени крысы линии Buffalo (BRL 3A); клетки легкого человека (W138); клетки печени человека (Hep G2); клетки опухоли молочной железы мыши (MMT 060562); клетки TRI, описанные, например, в Mather et al., *Annals N. Y. Acad. Sci.* 383: 44-68 (1982); клетки MRC 5 и клетки FS4. Другие пригодные линии клеток-хозяев млекопитающих включают клетки яичника китайского хомяка (CHO), в том числе клетки DHFR- CHO (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 4216 (1980)) и миеломные клеточные линии, такие как Y0, NS0 и Sp2/0. Обзор по некоторым полученным из млекопитающих линиям клеток-хозяев, пригодных для получения антител, можно найти, например, в Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), p. 255-268 (2003).

Фармацевтические композиции.

Антитела против сортилина по настоящему описанию можно включать в различные лекарственные формы для терапевтического введения посредством комбинирования антител с соответствующими фармацевтически приемлемыми носителями или разбавителями, и их можно готовить в виде препаратов в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной формах. Примеры таких лекарственных форм включают, без ограничения, таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, суппозитории, препараты для инъекций, средства для ингаляции, гели, микросферы и аэрозоли. В зависимости от лекарственной формы фармацевтические композиции могут включать фармацевтически приемлемые, нетоксические носители разбавителей, которые являются традиционно применяемыми носителями для изготовления фармацевтических композиций для введения животным или человеку. Разбавитель выбирают таким образом, чтобы не влиять на биологическую активность комбинации. Примерами таких разбавителей являются, без ограничения, дистиллированная вода, забуференная вода, физиологический раствор, ФСБ, раствор Рингера, раствор декстрозы и раствор Хенкса. Фармацевтическая композиция или лекарственная форма по настоящему описанию может дополнительно включать другие носители, адъюванты или нетоксичные, нетерапевтические, неиммуногенные стабилизаторы, вспомогательные вещества и тому подобное. Композиции также могут включать дополнительные вещества для достижения условий, приближенных к физиологическим, такие как буферные агенты, агенты, регулирующие pH и токсичность, увлажняющие агенты и детергенты.

Фармацевтическая композиция по настоящему описанию может также включать любой из множества стабилизирующих агентов, таких как, например антиоксидант. Когда фармацевтическая композиция включает полипептид, этот полипептид может образовывать комплекс с различными хорошо известными соединениями, которые усиливают устойчивость полипептида *in vivo* или иным образом повышают его фармакологические свойства (например, увеличивают период полувыведения полипептида, уменьшают его токсичность и повышают растворимость или поглощение). Примеры таких модификаций или комплексообразователей включают, без ограничения, сульфат, глюконат, цитрат и фосфат. Полипептиды композиции также могут образовывать комплексы с молекулами, которые усиливают их качества *in vivo*. Такие молекулы включают, без ограничения, углеводы, полиамины, аминокислоты, другие пептиды, ионы (например, натрий, калий, кальций, магний, марганец) и липиды.

Дополнительные примеры лекарственных форм, которые подходят для различных типов введения, можно найти в Remington Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985). Краткий обзор методов доставки лекарств см. Langer, Science 249: 1527-1533 (1990).

Для перорального введения активный ингредиент можно вводить в твердых лекарственных формах, таких как капсулы, таблетки и порошки, или в жидких дозированных формах, таких как эликсиры, сиропы и суспензии. Активный компонент(ы) можно инкапсулировать в желатиновые капсулы вместе с неактивными ингредиентами и порошкообразными носителями, такими как глюкоза, лактоза, сахароза, маннит, крахмал, целлюлоза или производные целлюлозы, стеарат магния, стеариновая кислота, сахарин натрия, тальк, карбонат магния. Примерами дополнительных неактивных ингредиентов, которые могут быть добавлены для обеспечения желаемого цвета, вкуса, стабильности, буферной способности, дисперсности или других известных желательных свойств, являются красный оксид железа, силикагель, лаурилсульфат натрия, диоксид титана и съедобные белые чернила. Подобные разбавители можно использовать для изготовления прессованных таблеток. Как таблетки, так и капсулы можно изготавливать в виде продуктов с замедленным высвобождением для обеспечения непрерывного высвобождения лекарственного средства в течение нескольких часов. Прессованные таблетки могут быть покрыты сахаром или покрыты пленкой, чтобы замаскировать любой неприятный вкус и защитить таблетку от атмосферного влияния, или покрыты растворимой в кишечнике оболочкой для избирательного распада в желудочно-кишечном тракте. Жидкие лекарственные формы для перорального введения могут содержать красители и ароматизаторы, повышающие восприимчивость пациента.

Лекарственные формы, подходящие для парентерального введения, включают водные и неводные изотонические стерильные инъекционные растворы, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические вещества и растворенные вещества, которые делают композицию изотоничной по отношению к крови предполагаемого реципиента, а также водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты.

Компоненты, используемые для получения фармацевтических композиций, предпочтительно имеют высокую чистоту и практически свободны от потенциально опасных примесей (например, по меньшей мере степень чистоты для пищевых продуктов (NF), как правило, по меньшей мере аналитическую степень чистоты, а чаще всего по меньшей мере фармацевтическую степень чистоты). Кроме того, композиции, предназначенные для использования *in vivo*, обычно являются стерильными. В той мере, в которой данное соединение должно быть синтезировано перед использованием, конечный продукт, как правило, по существу не содержит никаких потенциально токсических агентов, особенно любых эндотоксинов, которые могут присутствовать в процессе синтеза или очистки. Композиции для парентерального введения также являются стерильными, по существу изотоническими и изготовлены в условиях

GMP.

Препараты могут быть оптимизированы для удержания и стабилизации в головном мозге или центральной нервной системе. В случае если агент вводится в краниальный отдел, желательно, чтобы агент удерживался в отделе, а не диффундировал или иным образом не пересекал гематоэнцефалический барьер. Методы стабилизации включают перекрестное сшивание, мултимеризацию или связывание с группами, такими как полиэтиленгликоль, полиакриламид, нейтральные белковые носители и т.д. для достижения увеличения молекулярной массы.

Другие стратегии для увеличения удержания включают захват антитела, такого как антитело против сортилина по настоящему описанию, в биоразлагаемый или биоразрушаемый имплантат. Скорость высвобождения терапевтически активного агента регулируется скоростью транспорта через полимерную матрицу и биодеградацией имплантата. Транспортировка лекарственного средства через полимерный барьер также будет зависеть от растворимости соединения, гидрофильности полимера, степени перекрестного сшивания полимера, расширения полимера при поглощении воды, настолько чтобы сделать полимерный барьер более проницаемым для лекарственного средства, геометрии имплантата и тому подобного. Имплантаты имеют размеры, соизмеримые с размером и формой области, выбранной в качестве места имплантации. Имплантаты могут представлять собой частицы, листы, пластыри, диски, волокна, микрокапсулы и тому подобное и могут быть любого размера или формы, совместимой с выбранным местом введения.

Имплантаты могут быть монолитными, т.е. имеющими активный агент, однородно распределенный по полимерной матрице, или инкапсулированными, причем резервуар активного агента инкапсулирован полимерной матрицей. Выбор используемой полимерной композиции будет варьировать в зависимости от места введения, требуемого периода лечения, переносимости пациента, характера заболевания, подлежащего лечению, и тому подобного. Характеристики полимеров будут включать биодеградируемость в месте имплантации, совместимость с представляющим интерес агентом, легкость инкапсулирования, период полувыведения в физиологической среде.

Биодеградируемые полимерные композиции, которые можно использовать, включают, без ограничения, органические сложные или простые эфиры, разложение которых приводит к физиологически приемлемым продуктам деградации, включающим мономеры. Могут найти применение ангидриды, амиды, ортоэфиры и тому подобное самостоятельно или в комбинации с другими мономерами. Полимеры представляют собой конденсационные полимеры. Полимеры могут быть или не быть перекрестно-связанными. Особый интерес представляют полимеры гидроксисалифатических карбоновых кислот, как гомо-, так и сополимеры, и полисахариды. Представляющие интерес сложные полиэфиры включают полимеры D-молочной кислоты, L-молочной кислоты, рацемической молочной кислоты, гликолевой кислоты, поликапролактона и их комбинаций. Использование L-лактата или D-лактата обеспечивает получение медленно биодеградирующего полимера, вместе с тем деградация существенно усиливается при использовании рацемата. Соплимеры гликолевой и молочной кислот представляют особый интерес, для них скорость биодеградации контролируется отношением гликолевой кислоты к молочной кислоте. Наиболее быстро деградирующий сополимер имеет примерно равные количества гликолевой и молочной кислоты, причем каждый гомополимер более устойчив к деградации. Отношение гликолевой кислоты к молочной кислоте также влияет на хрупкость имплантата, причем более гибкий имплантат является более подходящим для больших геометрических размеров. Среди представляющих интерес полисахаридов альгинат кальция и функционализированные целлюлозы, в частности, сложные эфиры карбоксиметилцеллюлозы, характеризуются тем, что они нерастворимы в воде, имеют молекулярную массу от около 5 кДа до 500 кДа и т.д. Биодеградируемые гидрогели также могут быть использованы в имплантатах по настоящему изобретению. Как правило, гидрогели представляют собой сополимерный материал, характеризующийся способностью впитывать жидкость. Типовые биодеградируемые гидрогели, которые могут быть использованы, описаны в Heller: *Hydrogels in Medicine and Pharmacy*, N. A. Peppes ed., Vol. III, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1987, p. 137-149.

Дозировки фармацевтических композиций.

Фармацевтические композиции по настоящему описанию, содержащие антитело против сортилина по настоящему описанию, могут быть введены индивиду, нуждающемуся в лечении антителом против сортилина, предпочтительно человеку, в соответствии с известными способами, такими как внутривенное введение в виде болюса или путем непрерывной инфузии в течение определенного периода времени, внутримышечным, внутрибрюшинным, внутричерепноспинальным, внутричерепным, интраспинальным, подкожным, интраартикулярным, внутрисуставным, интратекальным, пероральным путем или посредством местных или ингаляционных путей введения.

Дозировки и желаемая концентрация лекарственных средств в фармацевтических композициях по настоящему изобретению могут варьировать в зависимости от конкретного предполагаемого использования. Определение подходящей дозы или способа введения находится в пределах компетенции среднего специалиста в данной области. Эксперименты на животных обеспечивают надежное руководство для определения эффективных доз для терапии человека. Межвидовое масштабирование эффективных доз может быть выполнено в соответствии с принципами, описанными в Mordenti, J. and Chappell, W. "The

Use of Interspecies Scaling in Toxicokinetics," In Toxicokinetics and New Drug Development, Yacobi et al., Eds, Pergamon Press, New York 1989, p. 42-46.

Для введения *in vivo* любого из антител против сортилина по настоящему описанию нормальные количества дозирования могут варьировать от около 10 нг/кг до около 100 мг/кг от веса тела индивида в день или более, предпочтительно от около 1 мг/кг/день до 10 мг/кг/день, в зависимости от пути введения. При повторном введении в течение нескольких дней или дольше, в зависимости от тяжести заболевания, нарушения или патологического состояния, подлежащего лечению, лечение поддерживается до достижения желаемого подавления симптомов.

Типовая схема применения может включать введение начальной дозы антитела против сортилина от около 2 мг/кг, с последующей еженедельной поддерживающей дозой от около 1 мг/кг каждую последующую неделю. Могут быть полезными и другие схемы дозирования, в зависимости от того, какой профиль фармакокинетического распада является желаемым для врача. Например, в данном документе рассматривается дозирование индивиду от одного до двадцати одного раза в неделю. В некоторых вариантах реализации изобретения может использоваться дозирование в диапазоне от около 3 мкг/кг до около 2 мг/кг (например, около 3 мкг/кг, около 10 мкг/кг, около 30 мкг/кг, около 100 мкг/кг, около 300 мкг/кг, около 1 мг/кг и около 2 мг/кг). В некоторых вариантах реализации изобретения частота приема лекарственного средства составляет три раза в день, два раза в день, один раз в день, один раз в два дня, один раз в неделю, один раз каждые две недели, один раз каждые четыре недели, один раз каждые пять недель, один раз каждые шесть недель, один раз каждые семь недель, один раз каждые восемь недель, один раз каждые девять недель, один раз каждые десять недель или один раз в месяц, один раз в два месяца, один раз в три месяца или дольше. Ход лечения легко наблюдать с помощью обычных методик и анализов. Схема дозирования, включая вводимое антитело против сортилина, может изменяться в динамике независимо от используемой дозы.

Дозы для конкретного антитела против сортилина могут быть определены эмпирически у индивидов, которым было назначено одно или более введений антитела против сортилина. Индивиды получают нарастающие дозы антитела против сортилина. Для оценки эффективности антитела против сортилина можно контролировать клинический симптом любого из заболеваний, нарушений или патологических состояний по настоящему описанию (например, лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматического повреждения мозга, повреждения спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических заболеваний сосудов или нежелательных симптомов естественного старения).

Введение антитела против сортилина по настоящему описанию может быть непрерывным или периодическим в зависимости, например, от физиологического состояния реципиента, того является ли назначение введения терапевтическим или профилактическим и других факторов, известных квалифицированным практикам. Введение антитела против сортилина может быть по существу непрерывным в течение заранее выбранного периода времени или может происходить в виде серии интервальных доз.

Рекомендации в отношении конкретных доз и способов доставки приведены в литературе; см., например, патенты США № 4657760; 5206344 или 5225212. В пределах объема настоящего описания различные лекарственные формы будут эффективны для различных видов лечения и различных устройств, и введение, предназначенное для лечения конкретного органа или ткани, может требовать доставки способом, отличным от способа доставки в другой орган или ткань. Кроме того, дозировки можно вводить посредством одного или более отдельных введений или посредством непрерывной инфузии. При повторных введениях в течение нескольких дней или дольше, в зависимости от состояния, лечение продолжается до желаемого подавления симптомов заболевания. Однако можно применять другие схемы лечения. Ход лечения можно контролировать с помощью обычных методик и анализов.

Терапевтическое применение.

В дополнительных аспектах по настоящему описанию предложены способы увеличения уровней програнулина у нуждающегося в этом индивида, например, в головном мозге, крови и/или периферических органах индивида, путем введения индивиду терапевтически эффективного количества одного или более антител против сортилина по настоящему описанию. В других аспектах по настоящему описанию предложены способы увеличения внеклеточных уровней програнулина путем приведения в контакт одной или более клеток с одним или более антител против сортилина по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения уровни програнулина увеличиваются без уменьшения клеточных уровней сортилина. В дополнительных аспектах по настоящему описанию предложены способы увеличения клеточных уровней сортилина у нуждающегося в этом индивида, например, в головном мозге и/или периферических органах индивида, путем введения индивиду терапевтически эффективного количества одного или более антител против сортилина по настоящему описанию. В других аспектах по настоящему описанию предложены способы уменьшения клеточных уровней сортилина одной или более клеток, включающие приведение в контакт одной или более клеток с одним или более антител против сортилина по настоящему описанию.

В дополнительных аспектах по настоящему описанию предложены способы увеличения эффективных концентраций програнулина и/или уменьшения эффективных концентраций нейротрофина по на-

стоящему описанию (например, пронеуротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, пронеуротрофинов, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофина-3, нейротрофина-4/5, NGF, BDNF, т.д.), нейротензина, p75, сортилинового пропептида (Sort-pro), амилоидного белка-предшественника (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9 и связанного с рецептором белка (RAP) в организме нуждающегося индивида путем введения индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по настоящему описанию для ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, нейротрофином по настоящему описанию (например, пронеуротрофинов, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF, т.д.), нейротензином, p75, сортилиновым пропептидом (Sort-pro), амилоидным белком-предшественником (APP), А-бета-пептидом, липопротеиновой липазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE) и/или связанным с рецептором белком (RAP).

В настоящем описании также предложены способы ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, нейротрофином по настоящему описанию (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, сортилиновым пропептидом (Sort-pro), амилоидным белком-предшественником (APP), А-бета-пептидом, липопротеиновой липазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE) и/или связанным с рецептором белком (RAP); а также одной или более активностей сортилина, програнулина, нейротрофина по настоящему описанию (например, пронеуротрофинов, пронеуротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, пронеуротрофина, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофина-3, нейротрофина-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензина, p75, сортилинового пропептида (Sort-pro), амилоидного белка-предшественника (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), PCSK9 и связанного с рецептором белка (RAP) в организме индивида путем введения индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по настоящему описанию.

Как описано в данном документе, антитела против сортилина по настоящему описанию можно также использовать для предупреждения, снижения риска или лечения лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических заболеваний сосудов, нежелательных симптомов естественного старения, деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, дегенеративного заболевания межпозвоночных дисков, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего супрануклеарного паралича, кортикальной базальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, связанными с гранулематозом нарушениями, саркоидозом, болезнью старения, возрастной макулярной дегенерацией, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, воспалительных нарушений, артрита, рассеянного склероза, нарушения метаболизма, ожирения, резистентности к инсулину, диабета 2 типа, повреждения тканей или сосудов, ранения и одного или более нежелательных симптомов естественного старения.

В некоторых вариантах реализации изобретения в настоящем описании предложены способы предупреждения, снижения риска или лечения индивида, имеющего лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, эпилептические припадки, дистрофию сетчатки, травматическое повреждение мозга, повреждение спинного мозга, длительную депрессию, атеросклеротические заболевания сосудов, нежелательные симптомы естественного старения, деменцию, смешанную деменцию, болезнь Крейтцфельда-Якоба, нормотензивную гидроцефалию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Хантингтона, таупатию, инсульт, острую травму, хроническую травму, волчанку, острый и хронический колит, болезнь Крона, воспалительное заболевание кишечника, неспецифический язвенный колит, малярию, эссенциальный тремор, волчанку центральной нервной системы, болезнь Бехчета, болезнь Паркинсона, деменцию с тельцами Леви, множественную системную атрофию, дегенерацию межпозвоночных дисков, синдром Шая-Дрейджера, прогрессирующий супрануклеарный паралич, кортикальную базальную ганглионарную дегенерацию, острый рассеянный энцефаломиелит, связанные с гранулематозом нарушения, саркоидоз, болезни старения, возрастную макулярную дегенерацию, глаукому, пигментный ретинит, дегенерацию сетчатки, инфекцию дыхательных путей, сепсис, глазную инфекцию, системную инфекцию, воспалительные нарушения, артрит, рассеянный склероз, нарушения метаболизма, ожирение, резистентность к инсулину, диабет 2 типа, повреждения тканей или сосудов, ранение или один или более нежелательных симптомов естественного старения, у нуждающегося индивида путем введения индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по настоящему описанию для: (i) ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, нейротрофином по

настоящему описанию (например, пронеуротрофинов, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF, т.д.), нейротензином, р75, сортилиновым пропептидом (Sort-pro), амилоидным белком-предшественником (APP), А-бета-пептидом, липопротеиновой липазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE) и/или связанным с рецептором белком (RAP); и/или (ii) ингибирования одной или более активностей сортилина, програнулина, нейротрофина по настоящему описанию (например, пронеуротрофинов, пронеуротрофина-3, пронеуротрофина-4/5, пронеуротрофина, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофина-3, нейротрофина-4/5, NGF, BDNF, т.д.), нейротензина, р75, сортилинового пропептида (Sort-pro), амилоидного белка-предшественника (APP), А-бета-пептида, липопротеиновой липазы (LpL), аполипопротеина AV (APOA5), аполипопротеина E (APOE), и связанного с рецептором белка (RAP). В некоторых вариантах реализации в настоящем описании предложены способы стимулирования заживления ран у нуждающегося в этом индивида путем введения индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по настоящему описанию.

В настоящем описании также предложены способы облегчения выживания клеток, например выживания клеток нервной системы, путем введения антитела против сортилина по настоящему описанию для ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, нейротрофином по настоящему описанию (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, р75, амилоидным белком-предшественников (APP) и А-бета-пептидом. Антитело против сортилина можно вводить клеткам *in vitro* для облегчения выживания клеток. В альтернативном варианте антитело против сортилина можно вводить *in vivo* (например, путем введения антитела индивиду) для облегчения выживания клеток.

В настоящем описании также предложены способы ингибирования нейровоспаления, аксонопатии, характеризующейся коротким аксональным отростком и аномальным разветвлением, микроглиальной активации и воспалительной реакции и стимулирования выживания клеток, аутофагии и выведения агрегированных белков путем введения антитела против сортилина по настоящему описанию для ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином, нейротрофином по настоящему описанию (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, р75, амилоидным белком-предшественников (APP) и А-бета-пептидом. Антитело против сортилина можно вводить клеткам *in vitro*. В альтернативном варианте антитело против сортилина можно вводить *in vivo* (например, путем введения антитела индивиду).

В настоящем описании также предложены способы уменьшения экспрессии одного или более провоспалительных медиаторов путем введения нуждающемуся индивиду антитела против сортилина по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения один или более провоспалительных медиаторов, выбирают из IL-6, IL12p70, IL12p40, IL-1 β , TNF- α , CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5. Деменция.

Деменция представляет собой неспецифический синдром (т.е. набор признаков и симптомов), который представляет собой серьезную потерю глобальных когнитивных способностей у человека, ранее не имеющего отклонений, помимо того, что можно ожидать от нормального старения. Деменция может быть статической вследствие уникальной глобальной травмы головного мозга. В альтернативном варианте, деменция может быть прогрессивной, что приводит к долгосрочному ухудшению здоровья из-за повреждения или заболевания в организме. В то время как деменция является гораздо более распространенной среди гериатрического населения, заболевание также может наблюдаться в возрасте до 65 лет. Когнитивные области, страдающие в результате деменции включают, без ограничения, память, концентрацию внимания, язык и решение проблем. Как правило, симптомы должны проявляться в течение по меньшей мере шести месяцев до того, как у индивидуума будет диагностирована деменция.

Типовые формы деменции включают, без ограничения, лобно-височную деменцию, болезнь Альцгеймера, сосудистую деменцию, семантическую деменцию и деменцию с телами Леви.

Без ограничения теорией полагают, что введение антитела против сортилина по настоящему описанию может предотвращать, снижать риск и/или излечивать деменцию. В некоторых вариантах реализации изобретения введение антитела против сортилина может индуцировать одну или более активностей програнулина у индивида, имеющего деменцию (например, нейротрофическую и/или выживательную активность у нейронов и противовоспалительную активность).

Лобно-височная деменция.

Лобно-височная деменция (FTD) представляет собой патологическое состояние, которое приводит к прогрессирующему разрушению лобной доли головного мозга. Со временем дегенерация может перейти в височную долю. Уступая только болезни Альцгеймера (AD) в распространенности, FTD составляет 20% случаев пресенильной деменции. Клинические признаки FTD включают нарушения памяти, поведенческие отклонения, изменения личности и языковые нарушения (Cruts, M. & Van Broeckhoven, C., Trends Genet. 24: 186-194 (2008); Neary, D., et al., Neurology 51: 1546-1554 (1998); Ratnavalli, E., Brayne, C., Dawson, K. & Hodges, J. R., Neurology 58: 1615-1621 (2002)).

Значительная часть случаев FTD унаследована по аутосомно-доминантному типу, но даже в одной семье симптомы могут охватывать спектр от FTD с поведенческими нарушениями до первичной прогрессирующей афазии, до ганглиозной дегенерации кортико-базального отдела. FTD, как и большинство нейродегенеративных заболеваний, может характеризоваться патологическим присутствием специфических белковых агрегатов в пораженном головном мозге. Исторически первые описания FTD определяли наличие внутринейрональных скоплений гиперфосфорилированного тау-белка в нейрофибриллярных клубках или телах Пика. Причинная роль белка, связанного с микротрубочками, была подтверждена идентификацией мутаций в гене, кодирующем тау-белок в нескольких семьях (Hutton, M., et al., *Nature* 393: 702-705 (1998)). Однако в большинстве случаев в головном мозге, пораженном FTD, не обнаруживаются накопления гиперфосфорилированного тау-белка, но проявляется иммунореактивность к убиквитину (Ub) и ДНК-связывающему белку TAR (TDP43) (Neumann, M., et al., *Arch. Neurol.* 64: 1388-1394 (2007)). Показано, что большинство из этих случаев FTD с включениями Ub (FTD-U) несут мутации в гене програнулина.

Мутации програнулина приводят к гаплонедостаточности и, как известно, представляют около 50% наследственных случаев FTD, делая мутации програнулина основным генетическим фактором в развитие FTD. Безотносительно к какой-либо теории, считается, что потеря функционирования гетерозиготного характера из-за мутаций програнулина указывает, что у здоровых индивидов, экспрессия програнулина играет дозозависимую критическую роль в защите здоровых индивидов от развития FTD.

Соответственно, увеличение уровней програнулина путем ингибирования взаимодействия между сортилином и програнулином может предотвращать, уменьшать риск и/или излечивать FTD.

Болезнь Альцгеймера.

Болезнь Альцгеймера (AD) является наиболее распространенной формой деменции. Не существует лекарства от этой болезни, которая ухудшается по мере ее прогрессирования и в конечном итоге приводит к смерти. Чаще всего AD диагностируется у людей старше 65 лет. Тем не менее, менее распространенная болезнь Альцгеймера с ранним началом может возникнуть гораздо раньше.

Общие симптомы болезни Альцгеймера включают поведенческие симптомы, такие как трудности с запоминанием недавних событий; когнитивные симптомы, путаницу, раздражительность и агрессию, перепады настроения, проблему с речью и потерю долгосрочной памяти. По мере прогрессирования заболевания функции организма теряются, что в конечном итоге приводит к смерти. Болезнь Альцгеймера развивается в течение неизвестного и изменчивого количества времени, прежде чем стать полностью очевидной, и она может прогрессировать недиагностированной годами.

Было показано, что сортилин связывается с амилоидным белком-предшественником (APP) и ферментом APP-процессинга BACE1. Без ограничения какой-либо теорией, полагают, что рецептор эти взаимодействия задействованы в развитии болезни Альцгеймера. Соответственно и без ограничения какой-либо теорией полагают, что антитела против сортилина по настоящему описанию можно использовать для ингибирования таких взаимодействий и предотвращения, снижения риска и/или излечения болезни Альцгеймера у нуждающихся индивидов.

Последние исследования также показали, что уровни пронеуротрофинов (например, pro-NGF, pro-BDNF и т.д.) увеличиваются на ранних стадиях болезни Альцгеймера (например, Fahnestock, M et al., (2001) *Cell Neurosci.* 18, 210-220; Michalski, B et al., (2003) *Brain Res. Mol. Brain Res.* 111, 148-154; Pedraza, CE et al., (2005) *Am. J. Pathol.* 166, 533-543; и Peng, S et al., (2005) *J. Neurochem.* 93, 1412-1421). Более того, пронеуротрофины претерпевают гликирование и липоокисление в гиппокампной и энторинальной области коры у пациентов с болезнью Альцгеймера (Counts, SE et al., (2004) *Ann. Neurol.* 56, 520-531; и Counts, SE et al., (2005) *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 64, 263-272). Этот факт делает пронеуротрофины менее чувствительными для процессинга в зрелые нейротрофины. Кроме того, у пациента с болезнью Альцгеймера уменьшена экспрессия TrkA, тогда как экспрессия p75 и сортилина сохраняется неизменной.

Соответственно и без ограничения какой-либо теорией полагают, что антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и нейротрофинами по настоящему описанию (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), p75, амилоидным белком-предшественников (APP) и А-бета-пептидом; или которые ингибируют одну или более активностей сортилина, можно применять для предотвращения, снижения риска и/или излечения болезни Альцгеймера у нуждающихся индивидов.

Сосудистая деменция.

Сосудистая деменция (VaD) представляет собой скрытно прогрессирующее ухудшение памяти и других когнитивных функций, которые, как считают, происходят из-за цереброваскулярного заболевания (заболевание кровеносных сосудов в головном мозге). Цереброваскулярное заболевание представляет собой прогрессирующее изменение в кровеносных сосудах (сосудистой системе) в головном мозге (большом мозге). Наиболее часто возникающее изменение сосудов, связанным с возрастом, является накоплением холестерина и других веществ на стенках кровеносных сосудов. Это приводит к утолщению и затвердению стенок, а также сужению сосудов, что может приводить к уменьшению и даже полной остановке потока крови в участки мозга, снабжаемые поврежденной артерией. Сосудистая деменция у паци-

ентов часто представлена сходными симптомами как у пациентов с болезнью Альцгеймера (AD). Тем не менее, близкие изменения в головном мозге происходят не из-за патологии AD, но из-за хронического пониженного потока крови в головной мозг, что в конце концов приводит к деменции. VaD считается одним из наиболее частых типов деменции у пожилых людей. Симптомы VaD включают сложности с памятью, сложности с организацией и решением сложных проблем, замедленным мышлением, рассеянностью или "забывчивостью", сложностью извлечения слов из памяти, изменениями настроения или поведения, такими как депрессия, раздражительность или апатия, и галлюцинации или бредовые состояния.

Без ограничения какой-либо теорией полагают, что одна или более активностей сортилина или одно или более взаимодействий между сортилином и програнулином, нейротрофинами по настоящему описанию (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, липопротеиновой липазой, аполипопротеином AV или связанным с рецептором белком вовлечены в развитие сосудистой деменции. Соответственно и без ограничения какой-либо теорией полагают, что антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и нейротрофинами по настоящему описанию (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, сортилиновым пропептидом (Sort-pro), амилоидным белком-предшественников (APP), А-бета-пептидом, липопротеиновой липазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE) и/или связанным с рецептором белком (RAP); или которые ингибируют одну или более активностей сортилина, можно применять для предотвращения, снижения риска и/или излечения сосудистой деменции у нуждающихся индивидов.

Эпилептические припадки, дистрофия сетчатки, травматические поражения головного мозга, повреждение спинного мозга и длительная депрессия.

Как используется в данном документе, дистрофия сетчатки относится к заболеванию или патологическому состоянию, которое вовлекает дегенерацию сетчатки. Такие заболевания или патологические состояния могут приводить к потере зрения или полную слепоту.

Как используется в данном документе, эпилептические припадки также включают эпилептические припадки и относится к переходному симптому аномальной избыточной или синхронной нейрональной активности в головном мозге. Внешний эффект может быть настолько кардинальным, как дикое бьющиеся движения или умеренная, или кратковременная потеря сознания. Эпилептические припадки могут проявляться в виде изменения психического состояния, тонические или судорожные движения, конвульсии и различные другие психические симптомы.

Травматические повреждения головного мозга (TBI) также могут быть известны как внутричерепные повреждения. Травматические повреждения головного мозга происходят, когда головной мозг травматически повреждается внешней силой. Травматические повреждения головного мозга могут классифицироваться на основе тяжести, механизма (закрытое или проникающее повреждение головы) или других признаков (например, происходящих в конкретном расположении или на протяженной области).

Повреждения спинного мозга (SCI) включает любое повреждение спинного мозга, которое вызвано вместо заболевания травмой. В зависимости от того, где поврежден спинной мозг и корешки нервов, симптомы могут сильно различаться от боли до паралича и недержания. Повреждения спинного мозга описаны на различных уровнях "недостаточности", которые могут отличаться от отсутствия влияния на пациента до "полного" поражения, которые означают полную потерю функции.

Длительная депрессия (LTD) представляет собой зависимое от активности снижение эффективности нейрональных синапсов, длящееся часы или дольше после длительно следовавшего стимула. Длительная депрессия может происходить во многих отделах центральной нервной системы с различными механизмами в зависимости от участка головного мозга и прогресса в развитии. Длительная депрессия может происходить в гиппокампе, большом мозге и различных типах нейронов, которые высвобождают различные нейротрансмиттеров. Без ограничения какой-либо теорией, полагают, что длительная депрессия может быть ассоциирована с нейродегенерацией, деменцией и болезнью Альцгеймера.

Было показано, что пронеуротрофины (например, пронеуротрофины-4/5, нейротрофин-4/5, pro-NGF, pro-BDNF и т.д.) играют роль при эпилептических припадках, дистрофии сетчатки, травматическом повреждении мозга, повреждении спинного мозга и длительной депрессии (например, Beattie, MS et al., (2002) *Neuron* 36, 375-386; Volosin, M et al. (2006) *J. Neurosci.* 26, 7756-7766; Nykjaer, A et al., (2005) *Curr. Opin. Neurobiol.* 15, 49-57; Jansen, P et al., (2007) *Nat. Neurosci.* 10, 1449-1457; Volosin, M et al., (2008) *J. Neurosci.* 28, 9870-9879; Fahnestock, M et al., (2001) *Mol. Cell Neurosci.* 18, 210-220; Nakamura, K et al., (2007) *Cell Death. Differ.* 14, 1552-1554; Yune, T et al. (2007) *J. Neurosci.* 27, 7751-7761; Arnett, MG et al., (2007) *Brain Res.* 1183, 32-42; Wei, Y et al., (2007) *Neurosci. Lett.* 429, 169-174; Provenzano, MJ et al., (2008) *Laryngoscope* 118, 87-93; и Pang, PT et al., (2004) *Science* 306, 487-491).

Соответственно и без ограничения какой-либо теорией полагают, что антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и нейротрофинами по настоящему описанию (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.); или которые ингибиру-

ют одну или более активностей сортилина, можно применять для предотвращения, снижения риска и/или излечения эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматических повреждений головного мозга, повреждений спинного мозга и/или длительной депрессии у нуждающихся индивидов.

Атеросклеротические заболевания сосудов.

Как используется в данном документе, термины "атеросклеротическое заболевание сосудов", "ASVD" и "атеросклероз" используются взаимозаменяемо и относятся к любому патологическому состоянию, при котором утолщается стенка артерий в результате накопления жировых веществ, таких как холестерин, липиды и триглицериды. "Атеросклеротические заболевания сосудов" включают, без ограничения, любое связанное с ASVD патологическое состояние, нарушение или заболевание, включая без ограничения, тромбоэмболию, инсульт, ишемию, инфаркты, коронарный тромбоз, инфаркт миокарда (например, сердечный приступ) и динамическое нарушение кровообращения.

Атеросклеротическое заболевание сосудов представляет собой синдром, поражающий артериальные кровеносные сосуды, хроническую воспалительную реакцию в стенках артерий, вызванную накоплением белых клеток крови макрофагов, и стимулированную липопротеинами низкой плотности (ЛНП) без адекватного удаления жиров и холестерина из макрофагов функциональными липопротеинами высокой плотности (ЛВП). Атеросклеротическое заболевание сосудов обычно относится к затвердению или закупорке артерий и вызвано образованием множества бляшек внутри артерий.

Как описано в данном документе, сортилиновые белки по настоящему описанию вовлечены в липидную регуляцию путем связывания ассоциированных с белками липидов, таких как связанный с рецептором белок, липопротеиновая липаза и аполипопротеины APOA5 и APOE (например, Nisson, SK et al., (2007) *Biochemistry* 46: 3896-3904; Nisson, SK et al., (2008) *J Biol Chem* 283: 25920-25927; и Klinger, SC et al., *J Cell Sci* 124: 1095-1105). Показано также, что у дефицитных по сортилину мышей отмечается пониженная бляшковая нагрузка в аорте и пониженные уровни холестерина в плазме в контексте дефицита рецептора ЛНП (например, Kjolby, M et al., *Cell Metab* 12: 213-223). В соответствии со сходными ролями сортилиновых рецепторов при липидном метаболизме, было показано, что SorLA оказывает сходное влияние на липидный метаболизм как сортилин, так как потеря SorLA является защитным фактором (например, Guo, Z et al., *Mediators Inflamm* 2012: 540794). SorLA находится под повышающей регуляцией в атероматозных бляшках в организме кроликов и мышей, а мыши с нокаутом защищены от покрывающего повреждения сосудов (например, Guo, Z et al., *Mediators Inflamm* 2012: 540794).

Соответственно и без ограничения какой-либо теорией полагают, что антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и липопротеиновой липазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), аполипопротеином E (APOE) и/или связанным с рецептором белком (RAP); или которые ингибируют одну или более активностей сортилина, можно применять для предотвращения, снижения риска и/или излечения атеросклеротических заболеваний сосудов у нуждающихся индивидов.

Нежелательные симптомы старения.

Как используется в данном документе, нежелательные симптомы старения включают, без ограничения, потерю памяти, изменения поведения, деменцию, болезнь Альцгеймера, дегенерацию сетчатки, атеросклеротические заболевания сосудов, потерю слуха и разрушение клеток.

Было показано, что пронеуротрофины (например, пронеуротрофин-3, нейротрофин-4/5, pro-NGF, pro-BDNF и т.д.) играют роль при старении и связанными со старением симптомами (например, Beattie, MS et al., (2002) *Neuron* 36, 375-386; Volosin, M et al. (2006) *J. Neurosci.* 26, 7756-7766; Nykjaer, A et al., (2005) *Curr. Opin. Neurobiol.* 15, 49-57; Jansen, P et al., (2007) *Nat. Neurosci.* 10, 1449-1457; Volosin, M et al., (2008) *J. Neurosci.* 28, 9870-9879; Fahnstock, M et al., (2001) *Mol. Cell Neurosci.* 18, 210-220; Nakamura, K et al., (2007) *Cell Death. Differ.* 14, 1552-1554; Yune, T et al., (2007) *J. Neurosci.* 27, 7751-7761; Arnett, MG et al., (2007) *Brain Res.* 1183, 32-42; Wei, Y et al., (2007) *Neurosci. Lett.* 429, 169-174; Provenzano, MJ et al., (2008) *Laryngoscope* 118, 87-93; Pang, PT et al., (2004) *Science* 306, 487-491; и Al-Shawi, R et al., *Ann N Y Acad Sci.* 2007; 1119: 208-15).

Соответственно, антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и програнулином, нейротрофинами по настоящему описанию (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, липопротеиновой липазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), и/или связанным с рецептором белком (RAP); или которые ингибируют одну или более активностей сортилина, можно применять для предотвращения, снижения риска и/или излечения одного или более нежелательных симптомов старения.

Боковой амиотрофический склероз (ALS).

Как используется в данном документе, термины боковой амиотрофический склероз (ALS) или болезнь моторных нейронов, или болезнь Лу Герига используются взаимозаменяемо и относятся к изнурительной болезни с различной этиологией, характеризующейся быстро прогрессирующей слабостью, мышечной атрофией и фасцикуляциями, мышечной слабостью, затруднением речи (дизартрией), затруднением глотания (дисфагией) и затруднением дыхания (одышкой).

Было показано, что програнулин играет роль при ALS (Schymick, JC et al., (2007) *J Neurol Neurosurg*

Psychiatry.; 78: 754-6) и защищает от повреждения, вызванного белками, вызывающими ALS, такими как TDP-43 (Laird, AS et al., (2010). PLoS ONE 5: e13368). Также было продемонстрировано, что pro-NGF индуцирует p75-опосредованную гибель олигодендроцитов и кортикоспинальных нейронов после повреждения спинного мозга (Beatty et al., Neuron (2002), 36, p. 375-386; Giehl et al, Proc. Natl. Acad. Sci USA (2004), 101, pp 6226-30).

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и програнулином, нейротрофинами по настоящему описанию (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, липопропротеиновой липазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), и/или связанным с рецептором белком (RAP); или которые ингибируют одну или более активностей сортилина, можно применять для предотвращения или лечения одного или более нежелательных симптомов ALS.

Депрессия.

Как используется в данном документе, депрессия или большое депрессивное расстройство (MDD), клиническая депрессия, большая депрессия, монополярная депрессия, униполярная депрессия, вторичная депрессия или дистимия используются взаимозаменяемо и относятся к психическому расстройству, характеризующемуся эпизодами всеохватывающего плохого настроения из-за низкой самооценки и потери интереса или удовольствия от обычно доставляющих удовольствия видов активности. Этот кластер симптомов (синдром) называли, описывали и классифицировали как одно из расстройств настроения в издании 1980 года руководства по диагностике Американской психиатрической ассоциации. Термин "депрессия" является неоднозначным. Он часто используется для определения этого синдрома, но может относиться к другим расстройствам настроения или к меньшим расстройствам настроения без клинической значимости. Большое депрессивное расстройство представляет собой инвалидизирующее состояние, которое негативно влияет на семейную жизнь лица, работу или школьную жизнь, привычки сна и питания и общее состояние здоровья. В США около 3, 4% людей с большим депрессивным расстройством совершают суицид, и до 60% людей, которые совершают суицид имеют депрессию или другое расстройство настроения.

Было показано, что нейротрофины вовлечены в проявление депрессии и антидепрессивного действия (Duman et al., Arch Gen Psychiatry (1997) 54: 597-606); например, вливание BDNF в гиппокамп вызывало антидепрессивный эффект в двух поведенческих моделях депрессии (Shirayama et al., (2002), J Neurosci 22: 3251-3261). Более того, обнаружено, что однонуклеотидный полиморфизм в гене bdnf, приводящий к замене валина (Val) на метионин (Met) в кодоне 66 в продоме (BDNF_{Met}) связан с увеличенной чувствительностью у людей, гетерозиготных по полиморфизму, к психоневрологическим расстройствам, включая болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, депрессию и биполярное нарушение (Chen et al, J. Neuroscience (2005), 25: 6156-6166; Kuipers and Bramham, Curr. Opin. Drug Discov. Devel. (2006) 9(5): 580-6; и Bath and Lee, Cogn. Affect. Behav. Neurosci (2006) 1: 79-85). В дополнение к этому, показано, что у гетерозиготных по BDNF_{Met} людей имеются нарушения памяти (Egan et al., Cell (2003). 112, p. 257-269).

В некоторых вариантах реализации изобретения антитела против сортилина по настоящему описанию, которые ингибируют взаимодействие между сортилином и програнулином, нейротрофинами по настоящему описанию (например, пронеуротрофинами, пронеуротрофином-3, пронеуротрофином-4/5, pro-NGF, pro-BDNF, нейротрофином-3, нейротрофином-4/5, NGF, BDNF и т.д.), нейротензином, p75, липопропротеиновой липазой (LpL), аполипопротеином AV (APOA5), и/или связанным с рецептором белком (RAP); или которые ингибируют одну или более активностей сортилина, можно применять для предотвращения или лечения одного или более нежелательных симптомов депрессии.

Болезнь Паркинсона.

Болезнь Паркинсона, которую можно назвать идиопатическим или первичным паркинсонизмом, гипокинетическим ригидным синдромом (HRS) или дрожательным параличом, является нейродегенеративным заболеванием мозга, которое влияет на регуляцию двигательной системы. Прогрессирующая гибель дофамин-продуцирующих клеток головного мозга приводит к основным симптомам болезни Паркинсона. Чаще всего болезнь Паркинсона диагностируется у людей старше 50 лет. Болезнь Паркинсона является идиопатической (не имеющей известной причины) у большинства людей. Однако генетические факторы также играют определенную роль в заболевании.

Симптомы болезни Паркинсона включают, без ограничения, тремор кистей, рук, ног, челюсти и лица, мышечную ригидность в конечностях и туловище, медлительность движения (брадикинезию), постральную нестабильность, затруднение при ходьбе, психоневрологические проблемы, изменение речи или поведения, депрессию, беспокойство, боль, психоз, слабоумие, галлюцинации и проблемы со сном.

Без ограничения теорией полагают, что введение антитела против сортилина по настоящему описанию может предотвращать, снижать риск и/или излечивать болезнь Паркинсона. В некоторых вариантах реализации изобретения введение антитела против сортилина может индуцировать одну или более активностей програнулина у индивида, имеющего болезнь Паркинсона.

Болезнь Хантингтона.

Болезнь Хантингтона (HD) является наследственным нейродегенеративным заболеванием, вызван-

ным аутосомно-доминантной мутацией в гене Huntingtin (HTT). Распространение цитокин-аденин-гуанинового (CAG) триплетного повтора в гене Huntingtin приводит к получению мутантной формы белка Huntingtin (Htt), кодируемого данным геном. Этот мутантный белок Huntingtin (mHtt) является токсичным и способствует гибели нейронов. Симптомы болезни Хантингтона чаще всего появляются между 35 и 44 годами, хотя они могут появляться в любом возрасте.

Симптомы болезни Хантингтона включают, без ограничения, проблемы с регуляцией моторики, отрывистые, случайные движения (хорею), аномальные движения глаз, нарушение равновесия, эпилептические припадки, затруднение жевания, затруднение глотания, когнитивные проблемы, измененную речь, недостаток памяти, трудности мышления, бессонницу, усталость, слабоумие, изменения в личности, депрессию, беспокойство и компульсивное поведение.

Без ограничения теорией полагают, что введение антитела против сортилина по настоящему описанию может предотвращать, снижать риск и/или излечивать болезнь Хантингтона (HD). В некоторых вариантах реализации изобретения введение антитела против сортилина может индуцировать одну или более активностей програнулина у индивида, имеющего HD.

Таупатия.

Болезнь таупатия или таупатии являются классом нейродегенеративных заболеваний, вызванных агрегацией связанных с микротрубочками тау-белков в головном мозге. Болезнь Альцгеймера (AD) является самой известной таупатией и включает накопление тау-белка в нейронах в виде нерастворимых нейрофибриллярных клубков (NFT). Другие болезни и расстройства таупатии включают прогрессирующий супрануклеарный паралич, деменцию боксеров (хроническую травматическую энцефалопатию), фронтотемпоральное слабоумие и паркинсонизм, связанные с хромосомой 17, болезнь литико-бодиг (комплекс Паркинсона-деменции острова Гуам), деменцию с преобладанием клубков, ганглиоглиому и ганглиоцитому, менингиоангиоматоз, подострый склерозирующий панэнцефалит, свинцовую энцефалопатию, туберозный склероз, болезнь Галлервордена-Шпатца, липофусциноз, болезнь Пика, кортикобазальную дегенерацию, болезнь аргирофильных зерен (AGD), болезнь Хантингтона, лобно-височную деменцию и лобно-височную дегенерацию лобно-височной доли.

Без ограничения теорией полагают, что введение антитела против сортилина по настоящему описанию может предотвращать, снижать риск и/или излечивать таупатию. В некоторых вариантах реализации изобретения введение антитела против сортилина может индуцировать одну или более активностей програнулина у индивида, имеющего таупатию.

Рассеянный склероз.

Рассеянный склероз (MS) может также называться множественным склерозом или encephalomyelitis disseminata. MS представляет собой воспалительное заболевание, при котором жиродержащие миелиновые оболочки вокруг аксонов головного и спинного мозга повреждаются, что приводит к демиелинизации и рубцеванию, а также широкому спектру признаков и симптомов. MS влияет на способность нервных клеток в головном и спинном мозге эффективно взаимодействовать друг с другом. Нервные клетки общаются посредством отправления электрических сигналов, называемых потенциалами действия, вдоль длинных волокон, называемых аксонами, которые находятся внутри изолирующего вещества, называемого миелином. При MS собственная иммунная система организма атакует и повреждает миелин. В случае потери миелина аксоны перестают эффективно проводить сигналы. Проявление MS обычно встречается у молодых людей и чаще встречается у женщин.

Симптомы MS включают, без ограничения, изменения в восприятии, такие как потеря чувствительности или покалывание; покалывание или онемение, такие как гипостезия и парестезия; мышечную слабость; клонус; мышечные спазмы; сложности с передвижением; сложности с координацией и равновесием, такие как атаксия; проблемы с речью, такие как дизартрия, или проблемы при глотании, такие как дисфагия; визуальные проблемы, такие как нистагм, неврит зрительного нерва, включая фосфены и диплопию; усталость; острую или хроническую боль; а также проблемы с мочевым пузырем и кишечником; когнитивные нарушения различной степени; эмоциональные симптомы депрессии или нестабильного настроения; феномен Ухтоффа, который является обострением существующих симптомов из-за воздействия более высоких, чем обычно окружающих температур; и симптом Лермитта, который является ощущением электрического разряда, проходящего вниз по спине при повороте шеи.

Без ограничения теорией полагают, что введение антитела против сортилина по настоящему описанию может предотвращать, снижать риск и/или излечивать рассеянный склероз. В некоторых вариантах реализации изобретения введение антитела против сортилина может индуцировать одну или более активностей програнулина у индивида, имеющего рассеянный склероз.

Глаукома и макулярная дегенерация.

Глаукома описывает, без ограничения, группу заболеваний, которые характеризуются повреждением зрительного нерва, приводящее к потере зрения и слепоте. Глаукома обычно вызвана увеличенным давлением жидкости (= внутриглазное давление) в переднем отделе нижней стороны роговицы. Глаукома приводит к последующей потере ганглионарных клеток сетчатки, которые являются важными для зрения. Возрастной макулярной дегенерации обычно подвержены пожилые люди, и она главным образом вызывает потерю зрения в желтом пятне, центральном поле зрения. Макулярная дегенерация, без огра-

нижения, вызывает друзы, изменения пигментации, искаженное восприятие, кровоизлияние глаза, атрофию, пониженную остроту зрения, нечеткое зрение, центральную скотому, ухудшение цветового восприятия и ухудшение контрастной чувствительности.

Без ограничения теорией полагают, что введение антитела против сортилина по настоящему описанию может предотвращать, снижать риск и/или излечивать глаукому и макулярную дегенерацию. В некоторых вариантах реализации изобретения введение антитела против сортилина может индуцировать одну или более активностей програнулина у индивида, имеющего глаукому или макулярную дегенерацию.

Дегенеративное заболевание межпозвонковых дисков (DDD).

Дегенеративное заболевание межпозвонковых дисков (DDD) описывает, без ограничения, группу заболеваний, в которых межпозвонковый диск (IVD) претерпевает интенсивные морфологические, а также биомеханические изменения, и обычно клинически проявляется у пациентов с болью в нижних отделах спины. Дегенеративные диски, как правило, демонстрируют дегенеративный соединительно-тканый хрящ и кластеры хондроцитов, предполагаемого восстановления. Может иметь место или отсутствовать воспаление. Результаты патологических исследований при DDD включают протрузию, спондилолиз и/или смещение (спондилолистез) и спинальный стеноз.

Комплекты/изделия.

Настоящее описание также относится к комплектам, содержащим выделенное антитело по настоящему описанию (например, антитело против сортилина, описанное в данном документе) или его функциональный фрагмент. Комплекты по настоящему описанию могут включать один или более контейнеров, содержащих очищенное антитело по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения комплекты дополнительно включают инструкции по применению в соответствии со способами настоящего описания. В некоторых вариантах реализации изобретения эти инструкции содержат описание введения выделенного антитела по настоящему описанию (например, антитела против сортилина, описанного в данном документе) для предупреждения, снижения риска или лечения индивида, имеющего заболевание, нарушение или повреждение, выбранное из лобно-височной деменции, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, длительной депрессии, атеросклеротических заболеваний сосудов, нежелательных симптомов естественного старения, деменции, смешанной деменции, болезни Крейтцфельда-Якоба, нормотензивной гидроцефалии, бокового амиотрофического склероза, болезни Хантингтона, таупатии, болезни Насу-Хакола, инсульта, острой травмы, хронической травмы, волчанки, острого и хронического колита, нарушения заживления ран, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, неспецифического язвенного колита, малярии, эссенциального тремора, волчанки центральной нервной системы, болезни Бехчета, болезни Паркинсона, деменции с тельцами Леви, множественной системной атрофии, синдрома Шая-Дрейджера, прогрессирующего супрануклеарного паралича, кортикальной базальной ганглионарной дегенерации, острого рассеянного энцефаломиелита, связанными с гранулематозом нарушениями, саркоидозом, болезнью старения, возрастной макулярной дегенерацией, глаукомы, пигментного ретинита, дегенерации сетчатки, инфекции дыхательных путей, сепсиса, глазной инфекции, системной инфекции, волчанки, артрита, рассеянного склероза и нарушения заживления ран, в соответствии с данным описанием.

В некоторых вариантах реализации изобретения инструкции содержат описание того, как определять белок сортилин, например, у индивида в образце ткани или в клетке. Комплект может дополнительно содержать описание отбора индивидуума, подходящего для лечения, на основе определения того, имеет ли данный индивид заболевание на этой стадии заболевания.

В некоторых вариантах реализации изобретения комплекты могут дополнительно содержать другое антитело по настоящему описанию (например, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующей контрольную точку молекулой, по меньшей мере одно антитело, которое специфически связывается с ингибирующим цитокином, и/или по меньшей мере одно агонистическое антитело, которое специфически связывается со стимулирующей контрольную точку белком) и/или по меньшей мере один стимулирующий цитокин. В некоторых вариантах реализации изобретения комплекты могут дополнительно включать инструкции для использования антитела и/или стимулирующего цитокина в комбинации с выделенным антителом по настоящему описанию (например, антителом против сортилина, описанным в данном документе), инструкции по применению выделенного антитела по настоящему описанию в комбинации с антителом и/или стимулирующим цитокином или инструкции по применению выделенного антитела по настоящему описанию и антитела и/или стимулирующего цитокина в соответствии с любым из способов по данному описанию.

Как правило, инструкции включают информацию о дозировке, схеме применения и способе введения для предполагаемого лечения. Контейнеры могут быть в виде единичных доз, многодозовых упаковок (например, упаковки для многократного приема) или субъединичных доз. Инструкции, предоставляемые в комплектах по настоящему описанию, как правило, представляют собой письменные инструкции на этикетке или листке-вкладыше в упаковке (например, бумажном листе, включенным в комплект), но машиночитаемые инструкции (например, инструкции, записанные на магнитном или оптическом накопи-

тельном диске) также являются приемлемыми.

На этикетке или листке-вкладыше в упаковке указано, что композицию используют для лечения, например, заболевания по настоящему описанию. Инструкции могут быть предложены для практического применения любого из описанных в данном документе способов.

Комплекты по этому описанию помещают в подходящую упаковку. Подходящая упаковка включает, но не ограничивается ими, флаконы, бутылки, сосуды, гибкую упаковку (например, герметические майларовые или пластиковые пакеты) и тому подобное. Также рассматриваются упаковки, предназначенные для использования в комбинации с конкретным устройством, таким как ингалятор, устройство для назального введения (например, распылитель) или инфузионное устройство, такое как мининасос. Комплект может иметь стерильное входное отверстие (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенных растворов или флакон, имеющий пробку, прокалываемую иглой для подкожной инъекции). Контейнер также может иметь стерильное входное отверстие (например, контейнер может представлять собой пакет для внутривенных растворов или флакон, имеющий пробку, прокалываемую иглой для подкожной инъекции). По меньшей мере одно действующее вещество в композиции представляет собой выделенное антитело по настоящему описанию (например, антитело против сортилина, описанное в данном документе). Контейнер может дополнительно содержать второе фармацевтическое действующее вещество.

В контейнерах могут необязательно предлагаться дополнительные компоненты, такие как буферы, и интерпретирующую информацию. В большинстве случаев, комплект содержит контейнер и связанную с контейнером или находящуюся на нем этикетку или вкладыш(и) в упаковке.

Диагностическое применение.

Выделенные антитела по настоящему описанию (например, антитело против сортилина, описанное в данном документе) также имеют диагностическую ценность. Таким образом в данном описании предложены способы использования антител по этому описанию или их функциональных фрагментов для диагностических целей, таких как выявления сортилина у индивида или в образцах тканей, полученных от индивида.

В некоторых вариантах реализации индивид является человеком. В некоторых вариантах реализации индивид является пациентом-человеком, страдающим от или подверженный риску развития заболевания, нарушения или повреждения по настоящему описанию. В некоторых вариантах реализации изобретения диагностические способы включают выявление белка сортилина в биологическом образце, таком как образец биопсии, ткань или клетка. Выделенное антитело по настоящему описанию (например, антитело против сортилина, описанное в данном документе) контактирует с биологическим образцом и выявляет связанное с антигеном антитело. Например, образец биопсии может быть окрашен с помощью антитела против сортилина, описанного в данном документе, для выявления и/или количественного определения связанных с заболеванием клеток. Способ выявления может включать количественное определение связанного с антигеном антитела. Выявление антител в биологических образцах может происходить любым способом, известным в данной области техники, включая иммунофлюоресцентную микроскопию, иммуноцитохимию, иммуногистохимию, ELISA, анализ FACS, иммунопреципитацию или микропозитронную эмиссионную томографию. В некоторых вариантах реализации изобретения антитело является меченым радиоактивным изотопом, например, ^{18}F и впоследствии обнаруживается с использованием анализа микропозитронной эмиссионной томографии. Связывание антитела также можно количественно определить у пациента с помощью неинвазивных методик, таких как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), рентгеновская компьютерная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), компьютерная томография (КТ) и аксиальная компьютерная томография (АКТ).

В других вариантах реализации изобретения выделенное антитело по настоящему описанию (например, антитело против сортилина, описанное в данном документе) можно использовать для выявления и/или количественного определения, например, микроглии в образце головного мозга, взятом из модели доклинического заболевания (например, модели заболевания, не относящейся к человеку). По существу, выделенное антитело по настоящему описанию (например, антитело против сортилина, описанное в данном документе) может быть полезным при оценке терапевтического ответа после лечения на модели заболевания нервной системы или повреждения, такого как лобно-височная деменция, болезнь Альцгеймера, сосудистая деменция, эпилептические припадки, дистрофия сетчатки, атеросклеротические заболевания сосудов, болезнь Насу-Хаккола или рассеянный склероз по сравнению с контролем.

Настоящее описание будет более понятным при рассмотрении следующих примеров. В то же время эти примеры не следует рассматривать как ограничивающие объем настоящего описания. Все ссылки по всему описанию изобретения явным образом включены в данный документ посредством ссылки.

Примеры

Пример 1. Продуцирование, идентификация и определение параметров антител против сортилина.
Введение.

Антитела против сортилина можно идентифицировать с использованием общепринятых библиотек репрезентации антител на основе дрожжей, например, как описанные в WO 2009/036379, WO 2010/105256, WO 2012/009568, US 2009/0181855 и US 2010/0056386. Такие библиотеки можно применять для идентификации антител против сортилина, которые блокируют взаимодействие между сортилином и сортилиновым лигандом, таким как програнулин и/или pro-NGF, и/или антитела против сортилина, которое перекрестно реагирует с другими сортилиновыми белками млекопитающих, таких как сортилин мыши, сортилин крысы и/или сортилин приматов.

В альтернативном варианте можно использовать стандартные протоколы для дисплейного скрининга на дрожжах, описанные в Patrick Chames (ed.), *Antibody Engineering: Methods and Protocols*, Second Edition, *Methods in Molecular Biology*, vol. 907, Springer Science+Business Media, LLC 2012 Chapter 15, *Selection of Antibody Fragments by Yeast Display* by Nathalie Scholler.

Антитела также можно получать любым другим общепринятым способом продуцирования антител, таким как описанные в *Antibody Engineering: Methods and Protocols*, Second Edition, *Methods in Molecular Biology*, vol. 907, Springer Science+Business Media, LLC 2012.

Способность антител ингибировать взаимодействия между сортилином и его лигандами затем можно валидировать множеством общепринятых и/или основанных на клетках анализах, включая, но не ограничиваясь ими, анализом поверхностного плазмонного резонанса, совместной иммунопреципитации, анализов pulldown, анализов со связанными с целлюлозой белками, анализами комплементации с β -галактозидазой, анализами популяций клеток с FRET, анализами с близостью лигирования и анализами связывания клеток.

Как описано в данном документе, было идентифицировано и охарактеризовано 85 антител против сортилина.

Материалы и методы.

Продукция мономерного и Fc-конъюгированного сортилина человека и мыши.

Экспрессию в организме млекопитающего сортилинового антигена выполняли путем клонирования синтетических генов на основе кДНК в экспрессионные векторы млекопитающих, с последующей транзгентной трансфекцией и экспрессией в клетки HEK293T. Конструкции включали гетерологичный сигнальный пептид и Fc IgG1 человека для конструкции Fc-слияния. Вкратце, экспрессионные векторы, содержащие интересующий антиген, трансфицировали путем комплексообразования с реагентом для трансфекции с последующим воздействием на клетки HEK293T в течение одного часа с последующим разведением культуральной среды до конечной плотности 4 миллиона клеток на мл. Затем клетки культивировали в течение 7 суток с подпиткой свежей средой каждые 48 часов. Через 7 суток супернатант собирали с последующим выполнением центрифугирования и очистки, используя белковую Ni-сефарозу и при необходимости очистку на SEC-колодке до достижения > 95% содержания неагрегированного мономера. Антигены мономерного сортилина получали путем фрагментирования слитого антигена сортилина-Fc с модифицированным каркасным участком (Lynaugh et al., *MAbs*. 2013 Oct; 5(5): 641-45) с протеазой FabRICATOR (IdeS) (Genovis, № по кат. A2-FR2-1000), с последующей аффинной очисткой на белке А для удаления нерасщепленного слитого с Fc белка и SEC для удаления агрегированного мономера.

Биотинилированные сортилин и програнулин.

Биотинилирование с реагентом для белков проводили с использованием набора EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation (Thermo Scientific, № по кат. 21425).

Сортилин и програнулин концентрировали до ~1 мг/мл и буферный раствор заменяли на ФСБ перед добавлением 1: 7,5 молярного соотношения реагента для биотинилирования (набор EZ-Link Sulfo-NHS-Biotinylation, Thermo Scientific, № по кат. 21425). Смеси выдерживали при 4°C в течение ночи перед другой заменой буферного раствора для удаления свободного биотина в растворе. Биотинилирование подтверждали посредством связывания стрептавидиновым сенсором меченых белков на приборе ForteBio.

Скрининг сортилиновых антител.

Как было описано ранее, были сконструированы, получены и размножены восемь наивных синтетических дрожжевых библиотек каждая по $\sim 10^9$ клеток (см., например: Xu et al, 2013; WO2009036379; WO2010105256; WO2012009568; Xu et al., *Protein Eng Des Sel*. 2013 Oct; 26(10): 663-70). Выполняли десять параллельных отборов, используя восемь наивных библиотек для отборов слитых антигенов Fc-сортилина человека и двух пулов восьми библиотек для отборов мономера сортилина человека. Для первых раундов отбора использовали методику сортировки магнитных гранул системы Miltenyi MACS, как было описано ранее (Siegel et al., *J Immunol Methods*. 2004 Mar; 286(1-2): 141-53). Вкратце, клетки дрожжей ($\sim 10^{10}$ клеток/библиотеку) инкубировали с 3 мл 10 нМ биотинилированного слитого антигена сортилин-Fc или 100 нМ биотинилированного антигена мономера сортилина в течение 15 мин при комнатной температуре в FACS-промывочном буфере ФСБ с 0,1% БСА. После однократного промывания с помощью 50 мл охлажденного льдом промывочного буфера осадок клеток ресуспендировали в 40 мл промывочного буфера.

вочного буфера и 500 мкл микросфер со стрептавидином (Miltenyi Biotec, г. Бергиш-Гладбах, Германия, № по кат. 130-04 8-101) добавляли к дрожжам и инкубировали в течение 15 мин при 4°C. Далее дрожжи осаждали, ресуспендировали в 5 мл промывочного буфера и загружали в колонку MACS LS (Miltenyi Biotec, г. Бергиш-Гладбах, Германия, № по кат. 130-042-401). После загрузки 5 мл колонку промывали 3 раза с помощью 3 мл промывочного буфера для FACS. Затем колонку удаляли из магнитного поля и дрожжи элюировали 5 мл среды для роста и затем выращивали в течение ночи. Следующие четыре раунда сортировки были выполнены с использованием проточной цитометрии. Приблизительно 1×10^8 клеток дрожжей осаждали, промывали три раза промывочным буфером и инкубировали с 10 нМ биотинилированным слитым антигеном сортилин-Fc или 100 нМ биотинилированного антигена мономера сортилина в течение 10 мин при комнатной температуре. Затем дрожжи дважды промывали и окрашивали с помощью козьего антитела с FITC к F(ab')₂ капна человека, разбавленным 1: 100 (Southern Biotech, г. Бирмингем, Алабама, № по кат. 2062-02) и либо стрептавидином-Alexa Fluor 633 (Life Technologies, г. Гранд Айленд, Нью-Йорк, № по кат. S21375), разбавленным 1: 500, либо экстравидин-фикоэритрином (Sigma-Aldrich, г. Сент-Луис, № по кат. E4011), разбавленным 1: 50 вторичными реагентами в течение 15 мин при 4°C. После двукратного промывания ледяным буфером для промывки осадки клеток ресуспендировали в 0,4 мл промывочного буфера и переносили в пробирки для сортировки с фильтром. Сортировка проводилась с использованием сортера FACS ARIA (BD Biosciences) и были выбраны гейты для сортировки для отбора только связывающих сортилин клонов в течение одного раунда, а второй раунд представлял собой отрицательную сортировку для уменьшения количества связывающих реагенты белков, полиспецифических связывающих белков (Xu et al., PEDS. 2013 Oct; 26(10): 663-70), и связывающих белков с контрольным белковым меченым HIS мономером SorCS1 человека. В третьем раунде использовали маркирование 10 нМ слитыми антигенами Fc-сортилина человека и мыши, 100 нМ антигена мономерного сортилина человека и конкуренция с програнулином с использованием сортилиновых антигенов (10 нМ) предварительно образовавших комплексы с 500 нМ програнулина. Для выявления дрожжевых клеток, конкурирующих с програнулином, выполняли заключительный раунд для обогащения белков, связывающих слитый антиген сортилина-Fc. После заключительного раунда сортировки дрожжи высевали в чашки, а отдельные колонии собирали для определения характеристик.

Для получения библиотек диверсификации легких цепей, применяемых для дополнительных отборов, использовали тяжелые цепи из результатов второго и четвертого раунда отбора сортировкой FACS. Для этих отборов в первом раунде отбора применяли гранулы Miltenyi MACs и маркирование 10 нМ слитого антигена Fc-сортилина человека. Далее следовали четыре раунда сортировки FACS. В первом раунде применяли 100 нМ антигена мономера сортилина человека. Второй раунд FACS был отрицательной сортировкой для уменьшения связывания со связывающими реагенты белками, полиспецифическими связывающими белками и связывающими белками с контрольным белковым HIS-меченым SorCS1 человека. В последних двух раундах использовали титрование мономером сортилина человека (100 нМ, 10 нМ и 1 нМ) для выявления связывающих белков с наибольшей аффинностью, 100 нМ мономера сортилина мыши и конкуренцию с контрольным антителом 3E3 для оценки конкурентной репрезентации в обогащенной популяции. После заключительного раунда сортировки дрожжи высевали в чашки, а отдельные колонии собирали для определения характеристик.

Продукция и очистка IgG и Fab антител.

Дрожжевые клоны выращивали до насыщения и затем индуцировали в течение 48 ч при 30°C при встряхивании. После индукции дрожжевые клетки осаждали и супернатанты собирали для очистки. IgG очищали с использованием колонки с белком A и элюировали уксусной кислотой, pH 2,0. Фрагменты Fab получали с помощью расщепления папаином и очищали на аффинной матрице CaptureSelect IgG-CH1 (Life Technologies, № по кат. 1943200250).

Эксперименты связывания на ForteBio.

Аффинность антител к сортилину определяли путем измерения их K_D методом ForteBio. Измерения аффинности методом ForteBio в целом проводили, как описано ранее (Estep et al., MAbs. 2013 Mar-Apr; 5(2): 270-8). Вкратце, измерения аффинности методом ForteBio проводили путем нанесения IgG в режиме онлайн на сенсоры АНҚ. Сенсоры уравнивали в режиме офлайн в буфере для анализа в течение 30 мин и затем контролировали в режиме онлайн в течение 60 секунд для установления базовой линии. Для измерения авидного связывания сенсоры с нанесенными IgG подвергали воздействию 100 нМ антигена (слияние Fc-сортилин человека или мыши) в течение 3 минут, после чего их переносили в буфер для анализа в течение 3 мин для измерения скорости диссоциации. Дополнительное авидное связывание определяли нанесением биотинилированного мономера сортилина на сенсоры SA и воздействием в растворе ~100 нМ IgG. Получали результаты моновалентного связывания нанесением слитых антигенов Fc-сортилина человека или мыши на сенсор АНҚ с последующим воздействием ~100 нМ Fab антитела к сортилину. Проводили дополнительные моновалентные измерения нанесением биотинилированного мономера сортилина человека или мыши на сенсор SA с последующим воздействием ~100 нМ Fab в растворе.

Кинетические данные подбирали с использованием модели связывания 1:1 в программном обеспечении для анализа данных, предоставленным ForteBio.

Сортировка эпитопов.

Сортировку эпитопов антител против сортилина проводили на системе Forte Bio Octet Red384 (ForteBio, г. Менло-Парк, штат Калифорния) с использованием стандартной сортировки в формате сэндвич-анализа. Контрольный IgG против мишени наносили на сенсоры АНQ, а незанятые Fc-связывающие сайты на сенсоре блокировали с помощью нерелевантного человеческого антитела-IgG1. Затем сенсоры подвергали воздействию 100 нМ антигена-мишени с последующим вторым антителом против мишени. Данные обрабатывали с использованием программного обеспечения для анализа данных ForteBio 7.0. Дополнительное связывание вторым антителом после связывания с антигеном указывает на незанятый эпитоп (неконкурирующий), в то время как отсутствие связывания указывает на блокирование эпитопа (конкурирующий). Данный процесс повторяли для четырех контрольных антител: (i) 3ЕЗ, которое связывается с доменом 1 сортилина (бин 1); (ii) S-29, которое связывается с доменом 2 сортилина (бин 2); (iii) S-3, которое связывается с доменом 3 сортилина (бин 3) и S-40, которое связывается с доменом 4 сортилина (бин 4). Вины антител перечислены ниже в табл. 5. Сходный способ сортировки можно применять для определения конкуренции между антителами против сортилина и полноразмерным програнулином человека или мыши, а также между антителами против сортилина и С-концевым програнулиновым пептидом.

Конкурентные анализы с програнулином.

Все эксперименты выполняли на приборе ForteBio HTX. Все образцы разбавляли в растворе PBSF (0,1% БСА в ФСБ). Во всех этапы погружения и считывания ForteBio использовали встряхивание при 1000 об/мин.

Конкуренцию с програнулином оценивали с применением трех анализов ForteBio.

Анализ 1. Эксперименты по определению конкуренции програнулина с биотинилированным програнулиновым С-концевым пептидом.

Перед анализом сенсоры SA замачивали в ФСБ в течение 10 мин. Пустые сенсоры погружали в раствор биотинилированного програнулинового (PGRN) С-концевого пептида (Bio-TKCLRREAPRWDAPLRDPALRQLL (SEQ ID NO: 693)) при концентрации 100 нМ, а затем перед анализом замачивали в PBSF в течение по меньшей мере 10 мин. Наконечники с нанесенным пептидом последовательно погружали в PBSF (60 с), мономер сортилина человека (100 нМ) в течение 3 мин и, наконец, в 100 нМ раствор антитела. Получали данные для анализа с помощью программного обеспечения для анализа данных ForteBio версии 8.1.0.36 следующим образом. Данные выравнивали по у-оси и корректировали по разнице между точками до начала этапа захвата сортилина, а затем обрезали только до этапов захвата сортилина и взаимодействия с антителами. Анализы, в которых не наблюдали сигнала связывания при добавлении исследуемого раствора данного антитела к сортилину, указывали, что сайт связывания исследуемого антитела к сортилину перекрывается с сайтом связывания PRGN-пептида на поверхности сортилина. Анализы, в которых наблюдали сигнал связывания при добавлении исследуемого раствора данного антитела к сортилину, указывали, что исследуемое антитело к сортилину не блокирует связывание PRGN-пептида с сортилином.

Анализ 2. Эксперименты по определению конкуренции програнулина с биотинилированным мономером сортилина человека.

Перед анализом сенсоры SA замачивали в ФСБ в течение 10 мин. Пустые сенсоры погружали в раствор биотинилированного мономера сортилина человека (100 нМ), а затем перед анализом замачивали в PBSF в течение 10 мин. Наконечники с нанесенным сортилином последовательно погружали в PBSF (1 мин), програнулин (1,0 мкМ) в течение 3 мин и, наконец, в 100 нМ раствор антитела. Получали данные для анализа с помощью программного обеспечения для анализа данных ForteBio версии 8.1.0.36 следующим образом. Данные выравнивали по у-оси и корректировали по разнице между точками до начала этапа захвата програнулина, а затем обрезали только до этапов захвата програнулина и взаимодействия с антителами. Анализы, в которых не наблюдали сигнала связывания при добавлении исследуемого раствора данного антитела к сортилину, указывали, что сайт связывания исследуемого антитела к сортилину перекрывается с сайтом связывания програнулина на поверхности сортилина. Анализы, в которых наблюдали сигнал связывания при добавлении исследуемого раствора данного антитела к сортилину, указывали, что исследуемое антитело к сортилину не блокирует связывание програнулина с сортилином.

Анализ 3. Эксперименты по определению конкуренции програнулина с биотинилированным програнулином.

Перед анализом сенсоры SA замачивали в ФСБ в течение 10 мин. Пустые сенсоры погружали в раствор биотинилированного програнулина (100 нМ), а затем перед анализом замачивали в PBSF в течение 10 мин. Наконечники с нанесенным програнулином последовательно погружали в PBSF (1 мин), 100 нМ мономера сортилина человека (3 мин) и, наконец, в 100 нМ раствор антитела. Получали данные для анализа с помощью программного обеспечения для анализа данных ForteBio версии 8.1.0.36 следующим образом. Данные выравнивали по у-оси и корректировали по разнице между точками до начала этапа захвата сортилина, а затем обрезали только до этапов захвата сортилина и взаимодействия с антителами. Анализы, в которых не наблюдали сигнала связывания при добавлении исследуемого раствора данного антитела к сортилину, указывали, что сайт связывания антитела к сортилину перекрывает сайт связыва-

ния програнулина на поверхности сортилина. Анализы, в которых наблюдали сигнал связывания при добавлении исследуемого раствора данного антитела к сортилину, указывали, что исследуемое антитело к сортилину не блокирует связывание програнулина с сортилином.

Результаты.

Активности антител против сортилина.

Антитела, которые связываются с сортилином, в частности, в пределах домена Vps10p, расположенные на аминокислотных остатках 78-611 сортилина человека (SEQ ID NO: 1), идентифицировали из восьми наивных синтетических библиотек человека на дрожжах, как описано выше. Всего было получено 85 антител (от S-1 до S-85). Затем антитела подвергали скринингу на связывание сортилина.

Последовательности переменных доменов тяжелой цепи и легкой цепи антител.

Используя стандартные методики, были определены аминокислотные последовательности, кодирующие переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи полученных антител. Последовательности CDR антител по EU и Kabat приведены в табл. 1. Последовательности каркасных участков легких цепей антител по EU и Kabat приведены в табл. 2. Последовательности каркасных участков тяжелых цепей антител по Kabat приведены в табл. 3.

Таблица 1
Последовательности CDR антител против сортилина по EU и Kabat

Антитело	CDR L1	CDR L2	CDR L3	CDR H1	CDR H2	CDR H3
S-1	RASQSVRSSYLA (SEQ ID NO:6)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSPWT (SEQ ID NO:41)	YTFTGYMH (SEQ ID NO:126)	WINPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO:150)	ARSPGGATDGLVYYYYGMDV (SEQ ID NO:179)
S-2	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFTGYMH (SEQ ID NO:126)	WINPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO:150)	ARGKRSSGWYEGYGMVDV (SEQ ID NO:180)
S-3	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQYKSPIT (SEQ ID NO:43)	YTFTGYMH (SEQ ID NO:126)	WINPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO:150)	ARGGPPQLRVAEYFQH (SEQ ID NO:181)
S-4	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:9)	GASTRAT (SEQ ID NO:29)	QQFRVLPPT (SEQ ID NO:44)	YTFTGYMH (SEQ ID NO:126)	WINPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO:150)	ARGGPPQLRVAEYFQH (SEQ ID NO:181)
S-5	RSSQSLHNSGNYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQVSTEPPT (SEQ ID NO:45)	YTFTGYMH (SEQ ID NO:126)	SINPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO:151)	ARRHRSSTYGMVDV (SEQ ID NO:182)
S-6	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:9)	GASTRAT (SEQ ID NO:29)	QQVANYPRT (SEQ ID NO:46)	YTFTGYMH (SEQ ID NO:126)	SINPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO:151)	ARGVGSSTVTLAYYYYGMDV (SEQ ID NO:183)
S-7	RASQSVRSSYLA (SEQ ID NO:6)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	DQLGSSPRT (SEQ ID NO:47)	YTFTSYGIS (SEQ ID NO:127)	SISAYNGNTNYAQKLQG (SEQ ID NO:152)	ARDPSGGTTLHYYYYGMDV (SEQ ID NO:184)
S-8	RASQSVSSSFLA (SEQ ID NO:11)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQAKVWPYT (SEQ ID NO:48)	YTFTSYGIS (SEQ ID NO:127)	SISAYNGNTNYAQKLQG (SEQ ID NO:152)	ARQGGHDSPTLYYYYYGMDV (SEQ ID NO:185)
S-9	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:9)	GASTRAT (SEQ ID NO:29)	QQYNIYPLT (SEQ ID NO:49)	YTFTSYGIS (SEQ ID NO:127)	WISAYNGNTNYAQKLQG (SEQ ID NO:153)	ARDPGGYGPTLYYYYYGMDV (SEQ ID NO:186)
S-10	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:9)	GASTRAT (SEQ ID NO:29)	QQYADWPPIT (SEQ ID NO:50)	YTFTSYGIS (SEQ ID NO:127)	WISAYNGNTNYAQKLQG (SEQ ID NO:153)	ARDPGGYGPTLYYYYYGMDV (SEQ ID NO:186)
S-12	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:9)	GASTRAT (SEQ ID NO:29)	QQYNNHPPT (SEQ ID NO:52)	YTFTSYGIS (SEQ ID NO:127)	WISAYNGNTNYAQKLQG (SEQ ID NO:153)	ARDLPKYKWFDFP (SEQ ID NO:188)
S-14	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	GASSLQS (SEQ ID NO:31)	QQHYVGFPT (SEQ ID NO:54)	YTFTSYHMS (SEQ ID NO:129)	IINPSSGGSTSYAQKFQG (SEQ ID NO:155)	ARDPSGIAAGPASRYYYGMDV (SEQ ID NO:190)

S-15	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:9)	GASTRAT (SEQ ID NO:29)	QQARLGPWT (SEQ ID NO:55)	YTFTSYYS (SEQ ID NO:129)	IINPSGGSTSYAQKFQ (SEQ ID NO:155)	ARDPSGIAAAGPASRYYYGMDV (SEQ ID NO:190)
S-16	RASQGISWLA (SEQ ID NO:12)	AASNLS (SEQ ID NO:32)	QQGNSVPIT (SEQ ID NO:56)	GTFFSYAIS (SEQ ID NO:130)	GIIPIFGTANYAQKFQ (SEQ ID NO:156)	ARSPYSGTRDFDL (SEQ ID NO:191)
S-18	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:13)	DASNRA (SEQ ID NO:34)	QQGANAPPRT (SEQ ID NO:58)	GTFFSYAIS (SEQ ID NO:130)	SIIPIFGTANYAQKFQ (SEQ ID NO:157)	ARDKHGRRGYYYYMDV (SEQ ID NO:193)
S-19	RASQISSYLN (SEQ ID NO:7)	SASSLS (SEQ ID NO:35)	QOTDGPPT (SEQ ID NO:59)	GTFFSYAIS (SEQ ID NO:130)	GIIPIFGTANYAQKFQ (SEQ ID NO:158)	ARESRIPGSGYYYYGMDV (SEQ ID NO:194)
S-20	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQYDGFPT (SEQ ID NO:60)	GTFFSYAIS (SEQ ID NO:130)	GIIPIFGTANYAQKFQ (SEQ ID NO:156)	AREGRMSGWYYAYGMDV (SEQ ID NO:195)
S-21	RASQISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLS (SEQ ID NO:27)	QQKASLFT (SEQ ID NO:61)	GTFFSYAIS (SEQ ID NO:130)	SIIPIFGTANYAQKFQ (SEQ ID NO:157)	ARERRYDGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:196)
S-22	RASQISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQADGHIT (SEQ ID NO:62)	GTFFSYAIS (SEQ ID NO:130)	GIIPIFGTANYAQKFQ (SEQ ID NO:158)	ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:197)
S-24	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQVAVSPIT (SEQ ID NO:64)	FTFGDYAMH (SEQ ID NO:133)	GISWNSGSIYADSVKG (SEQ ID NO:160)	AKPLYRGPFDI (SEQ ID NO:199)
S-25	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQYDSAPIT (SEQ ID NO:65)	FTFDDYAMH (SEQ ID NO:134)	GISWNSGSIYADSVKG (SEQ ID NO:160)	AKGVGQVPASVAFDI (SEQ ID NO:200)
S-26	RASQGISWLA (SEQ ID NO:16)	AASSLS (SEQ ID NO:27)	QQGNSLFT (SEQ ID NO:66)	FTFSSYMN (SEQ ID NO:135)	SISSSSYIYADSVKG (SEQ ID NO:161)	ARDRLGRGKYNWDFD (SEQ ID NO:201)
S-28	RSSQSLHSGNYNYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQLQSPIT (SEQ ID NO:68)	FTFSSYMN (SEQ ID NO:135)	SISSSSYIYADSVKG (SEQ ID NO:162)	ARGGLDRWGSFDI (SEQ ID NO:203)
S-29	RSSQSLHSGNYNYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQRIQGPPT (SEQ ID NO:69)	FTFSSYMN (SEQ ID NO:135)	SISSSSYIYADSVKG (SEQ ID NO:162)	ARGGLDRWGSFDI (SEQ ID NO:203)
S-30	RSSQSLHSGNYNYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQALGPIT (SEQ ID NO:70)	FTFSSYAMS (SEQ ID NO:136)	AISGSGGSTYADSVKG (SEQ ID NO:163)	ARGDGMV (SEQ ID NO:204)
S-32	RSSQSLHSGNYNYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQGIETPPT (SEQ ID NO:72)	FTFSSYAMS (SEQ ID NO:136)	AISGSGGSTYADSVKG (SEQ ID NO:164)	AKRGYPGPAPDI (SEQ ID NO:206)
S-34	RASQSVSSFLA (SEQ ID NO:11)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQYGSPLT (SEQ ID NO:74)	FTFSSYAMS (SEQ ID NO:136)	SISGSGGSTYADSVKG (SEQ ID NO:165)	AKTGTYGMDV (SEQ ID NO:208)
S-39	RSSQSLHSGNYNYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQAIQGPIT (SEQ ID NO:79)	FTFSSSAMS (SEQ ID NO:137)	AISGSGGSTYADSVKG (SEQ ID NO:163)	AKPLSTGGNI (SEQ ID NO:213)
S-40	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:13)	DASNRA (SEQ ID NO:34)	QQRSALPFT (SEQ ID NO:80)	FTFSSYAMS (SEQ ID NO:136)	AISGSGGSTYADSVKG (SEQ ID NO:163)	AREVMARARTYGMV (SEQ ID NO:214)
S-42	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQALRSPLT (SEQ ID NO:82)	FTFSNYAMS (SEQ ID NO:138)	AISGSGGSTYADSVKG (SEQ ID NO:163)	AKLYQGTDFDL (SEQ ID NO:216)
S-43	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQLGSHPT (SEQ ID NO:83)	FTFSSYAMS (SEQ ID NO:136)	AISGSGGSTYADSVKG (SEQ ID NO:163)	AKVGGMYDGGVYYGMDV (SEQ ID NO:217)
S-44	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:6)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQLDSSPIT (SEQ ID NO:84)	FTFSTYAMS (SEQ ID NO:139)	AISGSGGSTYADSVKG (SEQ ID NO:163)	AKTPSSIYAAGMDV (SEQ ID NO:218)
S-45	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSGSVPT (SEQ ID NO:85)	FTFSSYAMS (SEQ ID NO:136)	AISGSGGSTYADSVKG (SEQ ID NO:163)	ARVRGYGGSNYFDY (SEQ ID NO:219)
S-48	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:9)	SASTRAT (SEQ ID NO:37)	QQVNSPIT (SEQ ID NO:88)	FTFSSYGMH (SEQ ID NO:140)	VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:166)	ARESGDRATLVYYYYGMDV (SEQ ID NO:222)
S-49	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:6)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQAGDYPPT (SEQ ID NO:89)	FTFSSYGMH (SEQ ID NO:140)	VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:166)	ARDRGYSLLPYYYMDV (SEQ ID NO:223)
S-50	RSSQSLHSGNYNYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQALERPPT (SEQ ID NO:90)	FTFSSYGMH (SEQ ID NO:140)	VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:166)	ARDAYEGRVDV (SEQ ID NO:224)
S-51	RASQSVSSYLA (SEQ ID NO:13)	DASKRAT (SEQ ID NO:33)	QQRSNPIT (SEQ ID NO:91)	FTFSSYGMH (SEQ ID NO:140)	VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO:166)	AKGLEYYDSSRLPYYYMDV (SEQ ID NO:225)
S-55	RASQGISWLA (SEQ ID NO:21)	AASSLS (SEQ ID NO:27)	QQANALFT (SEQ ID NO:95)	YSISSGYWG (SEQ ID NO:142)	SIYHSGSTYNNPSLKS (SEQ ID NO:169)	ARGRPGLGWDKYFQH (SEQ ID NO:229)

S-57	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	EQYGGSPIT (SEQ ID NO:97)	YSISSGYYWG (SEQ ID NO:142)	SIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:169)	ARGPLKFYSGSGSYGFFDY (SEQ ID NO:231)
S-58	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:9)	GASTRAT (SEQ ID NO:29)	QDRKGFLT (SEQ ID NO:98)	YSISSGYYWG (SEQ ID NO:142)	SIYHSGNTYYNPSLKS (SEQ ID NO:171)	ARGPPELGKMYFQH (SEQ ID NO:232)
S-59	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QHGRLPPWT (SEQ ID NO:99)	YSISSGYYWG (SEQ ID NO:142)	SIYHSGNTYYNPSLKS (SEQ ID NO:171)	ARGPPELGKMYFQH (SEQ ID NO:232)
S-60	RSSQSLHNSNGYNYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQQETPLT (SEQ ID NO:100)	YSISSGYYWG (SEQ ID NO:142)	TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:170)	ARQGSIKQGYGMDV (SEQ ID NO:233)
S-61	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:9)	GASTRAT (SEQ ID NO:29)	QYLNYPIT (SEQ ID NO:101)	YSISSGYYWG (SEQ ID NO:142)	SIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:169)	ARGSPRFYSGSGSYLDLFDI (SEQ ID NO:234)
S-63	RASQSVSSSFLA (SEQ ID NO:11)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQLGIAPIT (SEQ ID NO:103)	YSISSGYYWG (SEQ ID NO:142)	SIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:169)	ARAEHRGPRYFDL (SEQ ID NO:236)
S-64	RASQSINSYLN (SEQ ID NO:15)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQLDSTPIT (SEQ ID NO:104)	YSISSGYYWG (SEQ ID NO:142)	SIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:169)	ARAEHRGPRYFDL (SEQ ID NO:236)
S-65	RSSQSLHNSNGYNYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQARDGPIT (SEQ ID NO:105)	YSISSGYYWG (SEQ ID NO:142)	SIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:169)	AREGQLFTGTFDY (SEQ ID NO:237)
S-66	RASQDISSWLA (SEQ ID NO:22)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	EQANSFPIT (SEQ ID NO:106)	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:144)	YIYSGSTVYNPSLKS (SEQ ID NO:172)	ARDVGRTPHYGYMDV (SEQ ID NO:238)
S-67	RSSQSLHNSNGYNYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:38)	MQRLAPIT (SEQ ID NO:107)	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:144)	SIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:173)	ARLHSDYSVLYGYMDV (SEQ ID NO:239)
S-69	RASQSVSSSLA (SEQ ID NO:20)	GASTRAT (SEQ ID NO:29)	QQAADWPIT (SEQ ID NO:109)	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:144)	YIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:175)	ARDRGTHFGADHYGYMDV (SEQ ID NO:241)
S-71	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQAASSPIT (SEQ ID NO:111)	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:144)	YIYSGSTVYNPSLKS (SEQ ID NO:172)	ARLPGYPLGLFDI (SEQ ID NO:243)
S-72	RASQGISWLA (SEQ ID NO:12)	AASNLS (SEQ ID NO:32)	QQAAPVPIT (SEQ ID NO:112)	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:145)	YIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:175)	ARDGRGESVYGYMDV (SEQ ID NO:244)
S-73	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:13)	EASRAT (SEQ ID NO:34)	QQAASVPIT (SEQ ID NO:113)	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:145)	YIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:175)	ARGVGRYRVADY (SEQ ID NO:245)
S-74	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:13)	EASRAT (SEQ ID NO:39)	QQETNMPIT (SEQ ID NO:114)	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:145)	YIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:175)	ARGVGAYRVADY (SEQ ID NO:245)
S-75	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:9)	EASTRAT (SEQ ID NO:37)	QQYNALPRT (SEQ ID NO:115)	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:144)	KIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:174)	ARDRGMGPKLYYYYGYMDV (SEQ ID NO:246)
S-76	RASQSISSFLN (SEQ ID NO:24)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSYREPIT (SEQ ID NO:116)	GSISSGGYYWS (SEQ ID NO:144)	SIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:173)	ARGVGIGQQLVLGFDP (SEQ ID NO:247)
S-78	KSSQSVLYSSNNKNYLA (SEQ ID NO:25)	WASTRES (SEQ ID NO:36)	QQYANAPIT (SEQ ID NO:118)	GSISSSDYYWG (SEQ ID NO:147)	SIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:173)	ARSLAMSGAYFDL (SEQ ID NO:249)
S-81	RSSQSLHNSNGYNYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQALDVPLT (SEQ ID NO:121)	GSISSSSYYWG (SEQ ID NO:148)	SIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:173)	ARERWDLGHGMDV (SEQ ID NO:252)
S-82	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSHVSPWT (SEQ ID NO:122)	GSISSSDYYWG (SEQ ID NO:147)	SIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:173)	ARGVSGSYGYRYFDY (SEQ ID NO:253)
S-83	RASQSVSSNLA (SEQ ID NO:9)	EASTRAT (SEQ ID NO:29)	QQYNAPPT (SEQ ID NO:123)	GSISSSSYYWG (SEQ ID NO:148)	SIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:173)	ARGSPTWLRDYMDV (SEQ ID NO:254)
S-84	RSSQSLHNSNGYNYLD (SEQ ID NO:10)	LASNRAE (SEQ ID NO:40)	MQAIDTPPT (SEQ ID NO:124)	GSISSSSYYWG (SEQ ID NO:148)	SIYSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:177)	ARGGTTWLVDY (SEQ ID NO:255)
S-85	RASQSVSSSFLA (SEQ ID NO:11)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	EQYASSPYT (SEQ ID NO:125)	YSFTSYWIG (SEQ ID NO:149)	IIVFGSDTTYSFSGG (SEQ ID NO:178)	ARGRGYSYGYHKAALFDI (SEQ ID NO:256)

Каркасные последовательности легких цепей антител против сортилина по EU и Kabat

Антилејо	VL FR1	VL FR2	VL FR3	VL FR4
S-1	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQAFRLIY (SEQ ID NO:C269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:D276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-2	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITC (SEQ ID NO:258)	WYQQKPKGAEKLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC (SEQ ID NO:277)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-3	DIQMTQSPSTLSASVGD RVIITC (SEQ ID NO:259)	WYQQKPKGAKPLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDFAVYYC (SEQ ID NO:278)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-4	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:260)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-5	DIVMTQSP LSLPVT PGE PASISC (SEQ ID NO:261)	WYLQKPGQS PQLLIY (SEQ ID NO:271)	GVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIY (SEQ ID NO:280)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-6	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:260)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-7	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-8	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-9	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:260)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-10	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:260)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-12	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:262)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-14	DIQMTQSPSSLSASVGD RVIITC (SEQ ID NO:258)	WYQQKPKGAKPLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC (SEQ ID NO:277)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-15	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:260)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-16	DIQMTQSPSSVSASVGD RVTITC (SEQ ID NO:263)	WYQQKPKGAKPLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC (SEQ ID NO:277)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-18	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:264)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:281)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-19	DIQMTQSPSSLSASVGD RVIITC (SEQ ID NO:258)	WYQQKPKGAKPLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC (SEQ ID NO:277)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-20	EIVMTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:265)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-21	DIQMTQSPSSLSASVGD RVIITC (SEQ ID NO:258)	WYQQKPKGAKPLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC (SEQ ID NO:277)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-22	DIQMTQSPSTLSASVGD RVIITC (SEQ ID NO:259)	WYQQKPKGAKPLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFAVYYC (SEQ ID NO:278)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-24	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-25	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-26	DIQMTQSPSSVSASVGD RVIITC (SEQ ID NO:263)	WYQQKPKGAKPLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC (SEQ ID NO:277)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-28	DIVMTQSP LSLPVT PGE PASISC (SEQ ID NO:261)	WYLQKPGQS PQLLIY (SEQ ID NO:271)	GVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIY (SEQ ID NO:280)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-29	DIVMTQSP LSLPVT PGE PASISC (SEQ ID NO:261)	WYLQKPGQS PQLLIY (SEQ ID NO:271)	GVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIY (SEQ ID NO:280)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-30	DIVMTQSP LSLPVT PGE PASISC (SEQ ID NO:261)	WYLQKPGQS PQLLIY (SEQ ID NO:271)	GVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIY (SEQ ID NO:280)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-32	DIVMTQSP LSLPVT PGE PASISC (SEQ ID NO:261)	WYLQKPGQS PQLLIF (SEQ ID NO:272)	GVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIY (SEQ ID NO:280)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-34	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-39	DIVMTQSP LSLPVT PGE PASISC (SEQ ID NO:261)	WYLQKPGQS PQLLIF (SEQ ID NO:272)	GVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIY (SEQ ID NO:280)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-40	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:266)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:281)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-42	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-43	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-44	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-45	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-48	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:260)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-49	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-50	DIVMTQSP LSLPVT PGE PASISC (SEQ ID NO:261)	WYLQKPGQS PQLLIY (SEQ ID NO:271)	GVPRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIY (SEQ ID NO:280)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-51	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:264)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:281)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-55	DIQMTQSPSSVSASVGD RVTITC (SEQ ID NO:263)	WYQQKPKGAKPLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC (SEQ ID NO:277)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-57	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-58	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:262)	WYQQKPKQA PRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-59	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC	WYQQKPKQA PRLLIY	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC	FGGGTKVEIK

S-60	(SEQ ID NO:257) DIVMTQSPFLSLPVTGPGEASISC (SEQ ID NO:261)	(SEQ ID NO:269) WYQKPGQSPQLLIY (SEQ ID NO:271)	(SEQ ID NO:276) GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO:280)	(SEQ ID NO:283) FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-61	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:260)	WYQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLSQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-63	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-64	DIQMTQSPFSSLSASVGDRTITC (SEQ ID NO:258)	WYQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC (SEQ ID NO:277)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-65	DIVMTQSPFLSLPVTGPGEASISC (SEQ ID NO:261)	WYQKPGQSPQLLIY (SEQ ID NO:271)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO:280)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-66	DIQLTQSPSSVSASVGDRTITC (SEQ ID NO:268)	WYQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC (SEQ ID NO:277)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-67	DIVMTQSPFLSLPVTGPGEASISC (SEQ ID NO:261)	WYQKPGQSPQLLIY (SEQ ID NO:271)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO:280)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-69	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:260)	WYQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLSQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-71	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-72	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITC (SEQ ID NO:263)	WYQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:270)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC (SEQ ID NO:277)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-73	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:264)	WYQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:281)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-74	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:266)	WYQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTDFTLTISLQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:281)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-75	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:260)	WYQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLSQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-76	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC (SEQ ID NO:258)	WYQKPGKAPKLLIS (SEQ ID NO:274)	GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC (SEQ ID NO:277)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-78	DIVMTQSPDLSVSLGERATINC (SEQ ID NO:267)	WYQKPGQPPKLLIY (SEQ ID NO:273)	GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYC (SEQ ID NO:282)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-81	DIVMTQSPFLSLPVTGPGEASISC (SEQ ID NO:261)	WYQKPGQSPQVLIY (SEQ ID NO:275)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO:280)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-82	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-83	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO:262)	WYQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTEFTLTISLSQSEDFAVYYC (SEQ ID NO:279)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-84	DIVMTQSPFLSLPVTGPGEASISC (SEQ ID NO:261)	WYQKPGQSPQLLIY (SEQ ID NO:271)	GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO:280)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)
S-85	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSC (SEQ ID NO:257)	WYQKPGQAPRLLIY (SEQ ID NO:269)	GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC (SEQ ID NO:276)	FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:283)

Таблица 3

Каркасные последовательности тяжелых цепей антител против сортилина по EU и Kabat

Антитело	VH FR1	VH FR2	VH FR3	VH FR4
S-1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:302)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:311)
S-2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:302)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:311)
S-3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:302)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:312)
S-4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:302)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:312)
S-5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:302)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:311)
S-6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:302)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:311)
S-7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:303)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:311)
S-8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:303)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:311)
S-9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:303)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:311)
S-10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:303)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:311)
S-12	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:303)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:312)
S-14	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:304)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:311)
S-15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:284)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:304)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:311)
S-16	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:285)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:305)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:314)
S-18	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:285)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:305)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:315)
S-19	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG (SEQ ID NO:285)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO:296)	RVMTTRDTSISTAYMELSLRSDDAVYYC (SEQ ID NO:305)	WGQGTIVTVSS (SEQ ID NO:315)

Начальное определение параметров антител против сортилина включало определение их способности связывания сортилина, экспрессируемого на эмбриональных клетках почки человека (293), экспрессирующих либо рекомбинантный сортилин человека (hSort), либо рекомбинантный сортилин мыши (mSort). Клетки собирали, помещали в концентрации 10^5 /мл в 96-луночный планшет, промывали и инкубировали в 100 мкл ФСБ, содержащем 10 мкг/мл Mab и 2% FBS в течение 1 ч на льду. Затем клетки дважды промывали и инкубировали в 100 мкл ФСБ+2% FBS, содержащем 5 мкг/мл вторичного античеловеческого антитела, конъюгированного с PE, в течение 30 мин на льду. Клетки дважды промывали в хо-

лодном ФСБ и данные получали с помощью BD FACS Canto. Анализ данных и расчет значений MFI выполняли с помощью программного обеспечения FlowJo (TreeStar) версии 10.0.7.

Медианные значения интенсивности флуоресценции (MFI) для типов клеток, связывающихся антителами к сортилину S1-S85, приведены в табл. 4. Связывание сравнивали с исходной линией клеток (293). Результаты в табл. 4 показывают, что S1-S85 специфически связывается с клеточными линиями, сверхэкспрессирующими сортилин человека и мыши на клеточной мембране, но не с контрольными клеточными линиями, которые не экспрессируют сортилин.

Таблица 4

Связывание антитела к сортилину с клетками человека и мыши

Антитело	MFI связывания hSort на клетках 293	MFI связывания mSort на клетках 293	MFI связывания с исходными клетками 293
S-1	10019	23720	68
S-2	8427	22413	96
S-3	8863	18775	62
S-4	9124	15696	38
S-5	10566	8817	133
S-6	11089	25632	45
S-7	10657	23714	88
S-8	14184	28089	41
S-9	10272	22166	40
S-10	8661	19377	98
S-11	2286	7064	106
S-12	9759	18830	38
S-13	5439	8692	134
S-14	8008	16531	106

043015

S-15	8745	17598	34
S-16	6279	1777	131
S-17	2409	2011	74
S-18	9347	21722	46
S-19	11724	28245	107
S-20	9390	23831	129
S-21	9382	22946	109
S-22	8935	23188	52
S-23	6682	8635	65
S-24	4381	10520	63
S-25	8376	5818	68
S-26	9018	20856	77
S-27	4302	9828	82
S-28	8564	21616	123
S-29	9604	21845	131
S-30	9433	19598	108
S-31	6082	9899	69
S-32	7898	4679	107
S-33	5996	4896	95
S-34	6217	8974	101
S-35	5798	5891	52
S-36	6331	8183	36
S-37	5949	4931	41
S-38	4678	11706	82
S-39	8178	8436	66
S-40	7411	2628	68
S-41	6498	963	34
S-42	7153	8247	66
S-43	6950	2016	64
S-44	6510	12288	42
S-45	8812	7788	41
S-46	6363	1459	43
S-47	5639	1785	47
S-48	8145	11921	114
S-49	11561	24088	34
S-50	7628	17540	33
S-51	12196	21931	137
S-52	5652	1380	115

S-53	4813	1456	136
S-54	6021	12448	52
S-55	9478	21359	46
S-56	6059	4343	39
S-57	9126	20843	97
S-58	7773	15090	52
S-59	7970	14213	111
S-60	7978	858	105
S-61	7476	21797	61
S-62	6534	20619	74
S-63	7689	19361	41
S-64	7932	3672	146
S-65	8072	17890	30
S-66	9010	7452	67
S-67	9129	2563	48
S-68	3872	1886	144
S-69	8585	1893	43
S-70	3544	1141	152
S-71	7505	2472	62
S-72	8992	7746	24
S-73	8073	7673	79
S-74	9207	7296	50
S-75	7131	12415	139
S-76	9680	4175	142
S-77	6224	13030	127
S-78	7117	7931	79
S-79	4294	1308	116
S-80	5110	579	112
S-81	8935	16565	108
S-82	10087	5196	35
S-83	9298	484	77
S-84	9242	15364	105
S-85	8356	20416	69
Изотипный контроль 1	44	43, 6	21
Изотипный контроль 2	38	41, 7	22

Аффинность связывания каждого антитела против сортилина определяли путем измерения их K_D методом ForteBio или MSD-SET при комнатной температуре. Измерения аффинности методом ForteBio проводили, как описано ранее (Estepet al., (2013) MAbS 5(2):270-8). Вкратце, измерения аффинности методом ForteBio проводили путем нанесения IgG в режиме онлайн на сенсоры ANQ. Сенсоры уравнивали в режиме оффлайн в буфере для анализа в течение 30 мин и затем контролировали в режиме онлайн в течение 60 секунд для установления базовой линии. Датчики с загруженными IgG подвергали воздействию 100 нМ антигена в течение 5 мин, затем переносили в буфер для анализа в течение 5 мин для измерения скорости диссоциации. Кинетику анализировали с использованием модели связывания 1:1.

Измерения равновесной аффинности проводили, как описано ранее (Estepet al, (2013) MAbS 5(2): 270-8). Титрования при равновесии сортилина (SET) проводили в ФСБ+0,1% БСА без IgG (PBSF) при постоянной концентрации антигена 50 пМ и инкубировали с от 3- до 5-кратными серийными разведениями антитела, начиная с 10 нМ. Антителами (20 нМ в ФСБ) покрывали стандартные планшеты связывания для MSD-ECL в течение ночи при 4°C или при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем планшеты блокировали в течение 30 мин при встряхивании со скоростью 700 об/мин, после чего проводили три промывки промывочным буфером (PBSF+0,05% Tween 20). Вносили образцы SET и инкубиро-

вали на планшетах в течение 150 с при встряхивании со скоростью 700 об/мин с последующей однократной промывкой. Антиген, захваченный на планшете, выявляли с помощью 250 нг/мл маркированного сульфаметкой стрептавидина в PBSF путем инкубации на планшете в течение 3 мин. Планшеты три раза промывали промывочным буфером, а затем считывали на приборе MSD Sector Imager 2400 с использованием 1х буфера для считывания Т с поверхностно-активным веществом. Процент свободного антигена наносили на график как функцию титруемого антитела в программе Prism и подбирали квадратное уравнение для получения значения K_D . Для повышения производительности использовались роботы для манипуляций с жидкостями во всех экспериментах MSD-SET, включая подготовку образцов SET.

В табл. 5 перечислены значения, отражающие аффинность связывания (K_D) антител S1-S85 к слитому белку Fc-сортину человека (hSort-Fc) и слитому белку Fc-сортину мыши (mSort-Fc), а также бин, которому они принадлежат. Антитела, которые принадлежат к таким же бином, конкурируют друг с другом за связывание с сортином. В табл. 5, "N. B. " соответствует отсутствию связывания; а "P. F. " соответствует слабому соответствию кривой.

Таблица 5
Аффинность связывания антител к сортину

Антитело	Номер бина	IgG KD hSort-Fc (M) , авид	IgG KD mSort-Fc (M) , авид
S-1	3/4	1. 87E-08	1. 22E-08
S-2	1/2	5. 17E-10	1. 07E-09
S-3	3/4	1. 24E-08	3. 29E-09
S-4	3/4	4. 50E-09	1. 55E-09
S-5	4	2. 46E-09	P. F.
S-6	3/4	3. 55E-09	1. 21E-09
S-7	3	4. 20E-09	1. 26E-09
S-8		3. 25E-09	1. 09E-09
S-9	3/4	6. 98E-09	2. 16E-09
S-10	3/4	1. 10E-08	2. 29E-09
S-11	3/4	7. 04E-08	3. 63E-08
S-12	4	9. 35E-09	N. B.
S-13	3/4	1. 53E-08	N. B.
S-14	3	5. 74E-09	2. 74E-09
S-15	3	2. 30E-09	1. 40E-09
S-16	1	3. 80E-09	N. B.
S-17	1/2	7. 59E-09	N. B.
S-18	2	4. 75E-10	2. 30E-09
S-19	2	8. 43E-10	7. 33E-10
S-20	2	1. 00E-09	9. 57E-10
S-21	2	1. 87E-09	2. 80E-09
S-22	2	9. 90E-10	1. 12E-09
S-23	3/4	2. 22E-08	P. F.
S-24	4	2. 74E-08	1. 32E-08
S-25	4	7. 07E-09	N. B.
S-26	3/4	2. 88E-09	6. 81E-10
S-27	3/4	1. 28E-08	2. 17E-08

043015

S-28	2	2. 99E-10	1. 25E-09
S-29	2	3. 70E-10	1. 37E-09
S-30	4	1. 55E-09	6. 11E-10
S-31	3/4	1. 17E-08	P. F.
S-32	3/4	9. 39E-09	P. F.
S-33	4	1. 19E-08	P. F.
S-34	4	1. 24E-08	P. F.
S-35	4	9. 87E-09	P. F.
S-36	4	9. 93E-09	P. F.
S-37	4	7. 69E-09	N. B.
S-38	3/4	1. 32E-08	1. 09E-08
S-39	4	5. 15E-09	1. 83E-08
S-40	4	2. 43E-09	P. F.
S-41	4	6. 51E-09	2. 38E-08
S-42	4	5. 86E-09	P. F.
S-43	4	1. 13E-08	P. F.
S-44	4	7. 81E-09	7. 96E-09
S-45	4	2. 07E-09	2. 96E-08
S-46	3/4	4. 31E-09	N. B.
S-47	4	5. 08E-09	2. 66E-08
S-48	3	4. 96E-09	1. 53E-09
S-49		1. 34E-09	1. 09E-09
S-50		2. 14E-09	1. 92E-09
S-51	3	4. 12E-09	1. 21E-09
S-52	3/4	7. 81E-09	4. 03E-08
S-53	1/2	8. 76E-09	2. 29E-08
S-54	3/4	5. 40E-09	2. 48E-09
S-55	3	2. 28E-09	1. 13E-09
S-56	1/2	2. 08E-08	3. 31E-08
S-57	3	2. 97E-09	1. 62E-09
S-58	3	2. 59E-09	8. 00E-10
S-59	3	6. 01E-09	1. 21E-09
S-60	4	9. 97E-10	N. B.
S-61	3	4. 26E-09	2. 45E-09
S-62	3/4	1. 16E-08	3. 24E-09
S-63	4	8. 95E-10	7. 23E-09
S-64	4	1. 24E-09	2. 42E-08
S-65	4	2. 92E-09	6. 90E-09
S-66	4	2. 37E-09	1. 78E-08

S-67	4	2. 66E-09	2. 01E-08
S-68	3/4	2. 26E-08	P. F.
S-69	3/4	4. 29E-09	2. 01E-08
S-70	3/4	9. 17E-09	N. B.
S-71	3/4	2. 82E-09	1. 75E-08
S-72	4	1. 32E-09	1. 25E-08
S-73	3/4	3. 33E-09	1. 97E-08
S-74	3/4	3. 05E-09	N. B.
S-75	3/4	7. 07E-09	1. 01E-08
S-76	4	1. 58E-09	1. 90E-08
S-77	3/4	5. 31E-09	4. 33E-09
S-78	4	3. 51E-09	1. 06E-08
S-79	3/4	2. 36E-08	N. B.
S-80	3/4	1. 95E-08	N. B.
S-81	4	2. 20E-09	1. 59E-09
S-82	2	3. 94E-10	1. 87E-08
S-83	4	1. 79E-09	N. B.
S-84	4	4. 40E-09	N. B.
S-85	3/4	7. 63E-09	3. 99E-09
Изотип-ный контроль 1		NA	NA
Изотипный контроль 2		NA	NA

Пример 2. Картирование эпитопов антител к сортилину.

Антитела к сортилину тестировали на их способность связывать пептиды в виде 15-мера или 25-мера, охватывающие весь белок сортилин человека и мыши.

Линейные пептиды в виде 15-мера синтезировали на основе последовательности сортилина человека (SEQ ID NO: 1) с перекрытием длиной 14 остатков. В дополнение к этому, линейные пептиды в виде 25-мера синтезировали на основе последовательности сортилина человека (SEQ ID NO: 1) с перекрытием длиной 24 остатков. Пептиды синтезировали с использованием стандартной Fmoc-химии и снятия защиты с использованием трифторуксусной кислоты с антиоксидантами. Связывание антител к сортилину с каждым из синтезированных пептидов исследовали методом на основе ELISA. В этом анализе пептидные матрицы инкубировали с раствором первичных антител (в течение ночи при 4°C). После промывки пептидные матрицы инкубировали с разведенным 1/1000 конъюгатом антитело-пероксидаза (SBA, № по кат. 2010-05) в течение одного часа при 25°C. После промывки добавляли субстрат пероксидазы 2, 2'-азино-ди-3-этилбензтиазолинсульфоната (ABTS) и 2 мкл/мл 3% H₂O₂. Через час измеряли образование окрашивания. Развитие окрашивания количественно определяли с помощью камеры с прибором с зарядовой связью (ПЗС) и системы обработки изображений.

Участок соединения сортилина определяли для шести антител против сортилина: S-1, S-8, S-44, S-49, S-65 и S-78. Участки связывания перечислены в табл. 6. На фиг. 1 показано схематическое представление сортилина человека, указывая участки связывания шестью антителами против сортилина.

Таблица 6
Участки связывания антител к сортилину

Антитело	Участок связывания сортилина	Аминокислотный участок из SEQ ID: 1
S-1	⁶²³ HSTDPEDYED ⁶³² (SEQ ID NO: 708)	623-632
S-8	⁴²⁹ ITFDQGGRWTHLRKP ⁴⁴³ (SEQ ID NO: 709)	429-443
S-44	⁷⁴⁰ CTSNFLSPEK ⁷⁴⁹ (SEQ ID NO: 710)	740-749
S-49	²³³ LSTENGLWVSK ²⁴³ (SEQ ID NO: 711)	233-243
S-65	¹⁷⁵ GPENSGK ¹⁸¹ (SEQ ID NO: 712)	175-181
S-78	²¹² LPFHPLTQMM ²²¹ (SEQ ID NO: 713)	212-221

Как указано в табл. 6, пептид, распознаваемый антителом S-1, соответствует аминокислотным остаткам 623-632 из SEQ ID NO: 1 и имеет аминокислотную последовательность из: HSTDPEDYED (SEQ ID NO: 708). Пептид, распознаваемый антителом S-8, соответствует аминокислотным остаткам 429-443 из SEQ ID NO: 1 и имеет аминокислотную последовательность из: ITFDQGGRWTHLRKP (SEQ ID NO: 709). Пептид, распознаваемый антителом S-44, соответствует аминокислотным остаткам 740-749 из SEQ ID NO: 1 и имеет аминокислотную последовательность из: CTSNFLSPEK (SEQ ID NO: 710). Пептид, распознаваемый антителом S-49, соответствует аминокислотным остаткам 233-243 из SEQ ID NO: 1 и имеет аминокислотную последовательность из: LSTENGLWVSK (SEQ ID NO: 711). Пептид, распозна-

ваемый антителом S-65, соответствует аминокислотным остаткам 175-181 из SEQ ID NO: 1 и имеет аминокислотную последовательность из: GPENSGK (SEQ ID NO: 712). Пептид, распознаваемый антителом S-78, соответствует аминокислотным остаткам 212-221 из SEQ ID NO: 1 и имеет аминокислотную последовательность из: LPFHPLTQMM (SEQ ID NO: 713). Пептиды, связывающиеся каждым антителом, описаны на фиг. 1. Пептид, распознаваемый S-1, показан зеленым цветом, пептид, распознаваемый S-65, показан красным цветом, пептид, распознаваемый S-49, показан синим цветом, пептид, распознаваемый S-78, показан желтым цветом, пептид, распознаваемый S-44, показан розовым цветом, и пептид, распознаваемый S-8, показан фиолетовым цветом.

Пример 3. Определение параметров взаимодействия между сортилином и програнулином.

Введение.

Взаимодействие между сортилином и програнулином характеризовали с использованием анализа ForteBio и поверхностного плазмонного резонанса (например, Skeldal, S et al., (2012) J Biol Chem., 287: 43798; и Andersen, OS et al., (2010) THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 285, 12210-12222).

Материалы и методы.

Взаимодействие между сортилином (SORT1) и програнулином (PGRN) характеризовали с использованием анализа и поверхностного плазмонного резонанса (ППР) (см., например, Skeldal, S et al., (2012) J Biol Chem., 287: 43798; и Andersen, OS et al., (2010) THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, 285, 12210-12222).

Определение непосредственного связывания програнулина человека или мыши с иммобилизованным сортилином, а также связывание сортилина человека или мыши с иммобилизованным програнулином в присутствии или отсутствии блокирующих антител против сортилина выполняли на приборе Biacore2000 (Biacore, Швеция) с использованием CaHBS в качестве стандартного подвижного буфера (10 mM HEPES, pH 7, 4, 140 mM NaCl, 2 mM CaCl₂, 1 mM EGTA и 0,005% Tween 20).

Биосенсорный чип от Biacore (CM5, № по каталогу BR-1000-14) активировали с использованием способа NHS/EDC, описанного поставщиком, с последующим покрытием сортилином до плотности белка 79 фмоль/мм² и применяли измерение аффинности нативного програнулинового белка. Регенерацию проточной ячейки после каждого цикла эксперимента определения связывания лигандов осуществляли двумя импульсными введениями по 10 мкл регенерирующего буфера (10 mM глицин-HCl, pH 4,0, 500 mM NaCl, 20 mM ЭДТК и 0,005% Tween 20) и одним введением 0,001% ДСН. Подбор сенсограмм для оценки аффинности выполняли, например, используя BIAevaluation, версия 3.1. После сходных протоколов также проводили иммобилизацию His-програнулина на биосенсорном чипе CM5 с использованием набора для связывания NHS/EDC, в соответствии с инструкциями производителя (Biacore, Швеция), давая сходные плотности иммобилизованного белка на поверхности (~300 фмоль/мм²). Биосенсорный чип с иммобилизованным програнулином также использовали для проверки связывания сортилина в отсутствие или присутствии конкурирующих антител к сортилину.

Конкуренцию лигандов между програнулином и антителами против сортилина сходным образом осуществляли для сортировки эпитопов антител к сортилину, описанной выше в примере 1. Вкратце, конкурентный анализ проводили на системе Forte Bio Octet Red384 (Pall Forte Bio Corporation, г. Менло-Парк, штат Калифорния) с использованием стандартной сортировки в формате сэндвич-анализа. Контрольный IgG против мишени наносили на сенсоры АНҚ, а незанятые Fc-связывающие сайты на сенсоре блокировали с помощью нерелевантного человеческого антитела-IgG1. Затем сенсоры подвергали воздействию 100 нМ антигена-мишени с последующим вторым антителом против мишени. Данные обрабатывали с использованием программного обеспечения для анализа данных ForteBio 7.0. Дополнительное связывание вторым антителом после связывания с антигеном указывает на незанятый эпитоп (неконкурирующий), в то время как отсутствие связывания указывает на блокирование эпитопа (конкурирующий).

Результаты.

Определение параметров связывания програнулина с сортилином.

Взаимодействия между сортилином и програнулином сначала охарактеризовали с использованием анализа ППР и ELISA. На фиг. 2А показаны данные кинетического анализа связывания PGRN с His-захваченным SORT1 с использованием анализа ППР Biacore. Вкратце, сортилин захватывался на сенсорном чипе CM5, на котором было иммобилизовано антитело против His (набор от GE). Програнулин пропускали в буфере для связывания с HBS в различных концентрациях. Подбор сенсограмм для оценки аффинности выполняли, например, используя BIAevaluation, версия 3.1. Результаты указывают, что програнулин человека связывается с сортилином человека с K_D равной 14,3 нМ.

Связывание между сортилином и програнулином также подтверждали анализом ELISA. Вкратце, сортилин человека или мыши (R&D Systems) иммобилизовали в течение ночи на планшете для ELISA (2 мкг/мл в ФСБ). Планшеты промывали в промывочном буфере (ФСБ+0,05% TWEEN20) и блокировали в течение одного часа при 37°C с помощью буфера для связывания (ФСБ+1% БСА). Рекombинантный програнулин человека или мыши (Adipogen) биотинилировали с помощью набора EZ-Link Micro NHS-PEG4 от ThermoScientific/ Pierce. Биотинилированный програнулин добавляли в различных концентрациях к иммобилизованному сортилину и инкубировали при КТ в течение 30 мин. Планшеты промыва-

ли трижды в промывочном буфере и инкубировали со стрептавидин-HRP (1:200 в буфере для связывания, R&D Systems) в течение 20 мин. Планшеты снова трижды промывали и инкубировали с субстратом TMB до развития окрашивания. Реакцию останавливали добавлением 50 мкл 2N серной кислоты и количественно определяли окрашивание с использованием считывающего устройства для планшетов Biotek Synergy H1. Данные анализировали и подбирали в программе Prism.

На фиг. 2B показано связывание биотинилированного програнулина человека с иммобилизованным сортилином человека на планшете для ELISA (OD = оптическая плотность), а на фиг. 2C показано связывание биотинилированного програнулина мыши с иммобилизованным сортилином мыши на планшете для ELISA. Результаты указывают, что програнулин человека связывается с сортилином человека с K_D равной 14 нМ, а програнулин мыши связывается с сортилином мыши с K_D равной 40 нМ.

Анализы конкуренции антител с програнулиновыми пептидами.

На фиг. 3A изображена схема анализа ForteBio для определения способности антител против сортилина связывать сортилин и для количественного определения параметров связывания (т.е. K_D). На этой фигуре "RU" относится к единицам ответа. Типовые результаты показаны с антителом S-14, для которого рассчитанное значение K_D составляет 0,8 нМ.

Анализы конкуренции антител с сортилиновыми пептидами.

На фиг. 3B изображены различные схемы конкурентных анализов ForteBio. На левой колонке изображено конкурентный анализ ForteBio с использованием биотинилированных програнулиновых пептидов, связанных на сенсорах SA, и рекомбинантного сортилина человека (мономер) и антител-IgG против сортилина (см. левую колонку; SORT= сортилин, PGRN= програнулин, b=биотинилированный, H= человека, моно=мономерный).

На средней колонке фиг. 3B изображено конкурентный анализ ForteBio с использованием биотинилированного мономерного белка сортилина человека, связанного на сенсорах SA, и нативного полноразмерного програнулина человека и антител против сортилина.

На правой колонке фиг. 3B изображено конкурентный анализ ForteBio с использованием биотинилированного програнулинового белка человека, связанного на сенсорах SA, и сортилиновых мономеров человека и антител против сортилина.

Результаты конкурентных анализов для антител.

На фиг. 4A изображены результаты трех различных анализов ForteBio, изображенных на фиг. 3A и 3B, и показано несколько примеров антител против сортилина, которые блокируют связывание програнулина (PGRN) с сортилином (SORT1).

На левой колонке фиг. 4A показана настройка связывания, описанного на левой колонке фиг. 3B, где пептид PGRN, связывающий SORT1, иммобилизован на SensorChip. Связывали SORT1, а затем исследовали может ли он связывать испытуемое антитело против сортилина. Антитела, способные связывать сортилин, считали неконкурирующими. Результаты показывают, что антитела S-20 и S-22 являются неконкурирующими, тогда как антитело S-14 является конкурирующим.

На средней колонке фиг. 4A показана настройка связывания, описанного на средней колонке фиг. 3B, где биотинилированный мономер SORT1, иммобилизован на SensorChip. Связывали полноразмерный белок PGRN, а затем исследовали может ли он связывать испытуемое антитело против сортилина. Антитела, способные связывать сортилин, считали неконкурирующими. Результаты показывают, что антитело S-20 является неконкурирующим, тогда как антитела S-14 и S-22 являются конкурирующими.

На правой колонке фиг. 4A показана настройка связывания, описанного на средней колонке фиг. 3B, где биотинилированный белок PGRN, иммобилизован на SensorChip. Связывали SORT1, а затем исследовали может ли он связывать испытуемое антитело против сортилина. Антитела, способные связывать сортилин, считали неконкурирующими. Результаты показывают, что антитела S-20 и S-22 являются неконкурирующими, тогда как антитело S-14 является конкурирующим.

Результаты на фиг. 4A, показывают, что не все антитела против сортилина являются конкурирующими и что некоторые, например антитело S-22, может действовать как неконкурирующее в одном или двух форматах, в то же время действуя как конкурирующее в другом(их) формате(ах).

На фиг. 4B показано связывание антител против сортилина (S-5, S-8, S-49, S-60, S-63, S-64, S-72 и S-83) с His-захваченным сортилином (SORT1) с использованием Biacore SPR при pH 6,4 и pH 7,4.

В табл. 7 показаны результаты конкурентных анализов ППР, выполненных с антителами S1-S85. Колонка 2 табл. 7 соответствует анализу, описанному в левой колонке фиг. 3B. Колонка 3 табл. 7 соответствует анализу, описанному в средней колонке фиг. 3B. Колонка 4 табл. 7 соответствует анализу, описанному в правой колонке фиг. 3B. В табл. 7, "hPGRN" относится к програнулину человека; "Да" показывает, что антитело блокирует в данном формате, а "Нет" показывает, что антитело не блокирует в данном формате.

Таблица 7
Конкурентные анализы ForteBio с антителами

Антитело	Конкуренция пептида hPGRN ForteBio, Пептидный формат	Конкуренция с нативным hPGRN ForteBio, Нативный формат 1	Конкуренция с нативным hPGRN, ForteBio, Нативный формат 2
S-1	Да	Да	Да
S-2	Нет	Нет	Нет
S-3	Да	Да	Да
S-4	Нет	Нет	Да
S-5	Да	Нет	Да
S-6	Нет	Нет	Да
S-7	Нет	Нет	Нет
S-8	Нет	Нет	Нет
S-9	Нет	Нет	Нет
S-10	Да?	Да	Да
S-11	Нет	Да	Да
S-12	Да	Нет	Да
S-13	Да	Да	Да
S-14	Да	Да	Да
S-15	Да	Нет	Да
S-16	Нет	Нет	Нет
S-17	Нет	Нет	Нет
S-18	Нет	Нет	Нет
S-19	Нет	Нет	Нет
S-20	Нет	Нет	Нет
S-21	Нет	Нет	Нет
S-22	Нет	Нет	Нет
S-23	Да	Да	Да
S-24	Да	Да	Да
S-25	Да	Нет	Да
S-26	Да	Нет	Да
S-27	Да	Нет	Да
S-28	Нет	Нет	Нет
S-29	Нет	Нет	Нет
S-30	Да	Нет	Да
S-31	Да	Да	Да
S-32	Да	Да	Да
S-33	Да	Да	Да
S-34	Да	Да	Да
S-35	Да	Да	Да
S-36	Да	Да	Да

S-37	Да	Да	Да
S-38	Да	Да	Да
S-39	Да	Да	Да
S-40	Да	Нет	Да
S-41	Да	Да	Да
S-42	Да	Да	Да
S-43	Да	Да	Да
S-44	Да	Да	Да
S-45	Да?	Нет	Да
S-46	Да	Да	Да
S-47	Да	Да	Да
S-48	Нет	Нет	Нет
S-49	Нет	Нет	Нет
S-50	Нет	Да	Нет
S-51	Нет	Нет	Нет
S-52	Да	Да	Да
S-53	Нет	Нет	Нет
S-54	Да	Да	Да
S-55	Да	Нет	Да
S-56	Нет	Да	Да
S-57	Нет	Нет	Да
S-58	Нет	Нет	Да
S-59	Нет	Да	Да
S-60	Да	Нет	Да
S-61	Да	Да	Да
S-62	Да	Да	Да
S-63	Да	Нет	Да
S-64	Да	Нет	Да
S-65	Да	Нет	Да
S-66	Да	Нет	Да
S-67	Да	Нет	Да
S-68	Да	Да	Да
S-69	Да	Нет	Да
S-70	Да	Да	Да
S-71	Да	Нет	Да
S-72	Да	Нет	Да
S-73	Да	Да	Да
S-74	Да	Да	Да
S-75	Нет	Нет	Да
S-76	Да	Нет	Да
S-77	Нет	Да	Да
S-78	Да	Да	Да
S-79	Да	Да	Да
S-80	Да	Да	Да
S-81	Да	Нет	Да
S-82	Нет	Нет	Нет
S-83	Да	Нет	Да
S-84	Да	Да	Да
S-85	Да?	Да	Да
Изотипный контроль 1	Нет	Нет	Нет
Изотипный контроль 2	N/D	N/D	N/D

Пример 4. Определение параметров взаимодействия между сортилином и програнулином с использованием анализов на основе клеток.

Материалы и методы.

Рекомбинантный програнулин человека или мыши (Adipogen) биотинилировали с помощью набора EZ-Link Micro NHS-PEG4 от ThermoScientific/ Pierce в соответствии с инструкциями производителя. Стабильную линию клеток, экспрессирующую полноразмерный немаркированный сортилин человека получали путем вирусной инфекции клеток HEK293T, и проводили положительный отбор с гигромицином (специальный проект Genscript). Полноразмерный сортилин мыши клонировали в pCMV-AC-IRES-GFP (Origene) и клетки HEK293T транзистентно трансфицировали этой плазмидой с использованием Eugene HD (Promega). В качестве контрольных клеток использовали либо исходные клетки HEK293T, либо клетки HEK293T, экспрессирующие полноразмерный SORCS1 человека (клонированный в pCMV-AC-IRES-GFP).

Экспрессирующие сортилин клетки или контрольные клетки собирали и промывали в ФСБ. Биотинилированный програнулин человека или мыши добавляли в ФСБ+2% FBS с антитела против сортилина (10 мкг/мл) или без него или контрольными антителами человека с изотипом IgG1 и инкубировали на льду в течение 2 ч. После промывания клеток 3 раза в ФСБ+2% FBS, клетки инкубировали в стрептавидине-APC (BD Biosciences, 1:100) на льду в течение 30 мин. Затем клетки снова промывали, ресуспендировали в ФСБ+2% FBS и анализировали на проточном цитометре FACSCanto™ (BD Biosciences, Миссисауга, Онтарио, Канада). Связывание PGRN измеряли как медианную интенсивность флуоресценции APC экспрессирующей сортилин популяции клеток.

Результаты.

Связывание програнулина с сортилином.

Анализировали способность биотинилированного програнулина человека (PGRN) или биотинилированного PGRN мыши связываться с сортилином (SORT1) человека или мыши, экспрессированного на поверхности клеток HEK293T. Биотинилированный програнулин добавляли в возрастающих концентрациях (0 нМ - 100 нМ) к клеткам HEK293T, экспрессирующим сортилин, или контрольным клеткам, а связывание анализировали с использованием FACSCanto™.

На фиг. 5A представлен график FACS, демонстрирующий дозозависимое связывание PGRN человека с рекомбинантным SORT1, экспрессируемым на клетках HEK293T. Как показано на фиг. 5B, PGRN не показывает сильного связывания с контрольными клетками.

На фиг. 5C и 5D показано медианную интенсивность флуоресценции (MFI), отложенную на графике по отношению к концентрации PGRN человека, связывающегося с рекомбинантным сортилином (SORT) человека на клетках HEK293T (фиг. 5C), или PGRN мыши, связывающегося с сортилином (SORT1) мыши, экспрессируемым на клетках HEK293T (фиг. 5D), по сравнению с контрольными клетками, которые не экспрессируют рекомбинантный сортилин. Результаты демонстрируют, что PGRN связывается с сортилином дозозависимым образом.

Сортилиновые антитела, способные блокировать связывание програнулина.

Для исследования того, могут ли антитела против сортилина блокировать связывание програнулина с сортилином, экспрессирующие сортилин клетки инкубировали с 15 нМ биотинилированного програнулина человека или мыши с 67 нМ антител против сортилина. Результаты конкурентного анализа с програнулином на основе клеток показаны в табл. 8. Антитела против сортилина показывают диапазон значений для блокирования програнулина. Антитела S-64, S-63, S-60, S-05, S-49, S-72, S-06, S-76, S-83 и S-65 идентифицировали как самые эффективные антитела для блокирования програнулина.

В табл. 8, "hPGRN" относится к програнулину человека, "mPGRN" относится к програнулину мыши, "hSort" относится к сортилину человека и "mSort" относится к сортилину мыши.

Таблица 8
Конкуренция антител в анализе на основе клеток

Антитело	Конкуренция с FL hPGRN на экспрессирующих hSort клетках (% блокирования связывания hPGRN)	Конкуренция с FL mPGRN на экспрессирующих mSort клетках (% блокирования связывания mPGRN)
S-1	57, 05	61, 54
S-2	17, 88	-10, 83
S-3	26, 26	11, 25
S-4	30, 06	11, 06
S-5	81, 22	31, 30
S-6	69, 54	71, 66
S-7	9, 30	N/D
S-8	58, 02	26, 53
S-9	4, 58	-9, 97
S-10	5, 14	-7, 84
S-11	7, 25	N/D
S-12	55, 04	-7, 06
S-13	41, 49	-0, 22
S-14	35, 93	15, 56
S-15	35, 71	23, 87
S-16	29, 17	N/D
S-17	18, 83	N/D
S-18	9, 07	6, 99
S-19	19, 69	10, 60
S-20	11, 74	-5, 70

043015

S-21	11, 12	-2, 99
S-22	15, 51	-1, 90
S-23	37, 09	15, 56
S-24	28, 41	66, 57
S-25	41, 55	2, 35
S-26	57, 05	75, 88
S-27	18, 35	N/D
S-28	7, 42	5, 72
S-29	11, 32	1, 24
S-30	63, 75	94, 58
S-31	27, 31	N/D
S-32	41, 61	-1, 00
S-33	38, 13	-3, 01
S-34	52, 37	26, 06
S-35	43, 53	6, 03
S-36	45, 14	7, 60
S-37	23, 29	N/D
S-38	26, 50	4586
S-39	52, 00	50, 17
S-40	46, 60	0, 24
S-41	43, 14	-1, 29
S-42	41, 66	27, 39
S-43	52, 86	-7, 75
S-44	37, 39	63, 67
S-45	53, 05	23, 18
S-46	43, 93	-2, 68
S-47	36, 72	-7, 65
S-48	18, 36	-20, 32
S-49	74, 62	-43, 64
S-50	12, 47	-26, 16
S-51	49, 71	-9, 22
S-52	28, 25	N/D
S-53	31, 77	-4, 41
S-54	31, 83	18, 15
S-55	36, 68	8, 32
S-56	19, 77	N/D
S-57	44, 46	37, 02

S-58	39, 91	18, 13
S-59	30, 64	13, 27
S-60	81, 61	-7, 93
S-61	23, 81	9, 05
S-62	4, 47	-10, 15
S-63	81, 81	15, 90
S-64	82, 11	8, 32
S-65	68, 27	26, 10
S-66	60, 52	7, 75
S-67	54, 12	11, 41
S-68	22, 98	N/D
S-69	67, 10	9, 72
S-70	12, 75	N/D
S-71	55, 05	6, 16
S-72	70, 56	6, 22
S-73	48, 53	3, 86
S-74	61, 72	6, 67
S-75	12, 92	-0, 67
S-76	69, 39	7, 21
S-77	12, 33	23, 35
S-78	45, 95	42, 58
S-79	31, 10	5, 63
S-80	17, 07	N/D
S-81	64, 24	81, 99
S-82	8, 32	N/D
S-83	68, 67	4, 64
S-84	49, 76	9, 22
S-85	46, 41	75, 33
Изотипный контроль 1	-6, 06	1, 73
Изотипный контроль 2	-2, 95	5, 67

Для исследования блокирующей способности наиболее эффективных для блокирования програнулина антител против сортилина, экспрессирующие сортилин клетки HEK293T инкубировали с 15 нМ биотинилированного програнулина человека или мыши вместе с увеличивающимися концентрациями антител против сортилина или контрольных антител. Измеряли медианную интенсивность флуоресценции и подбирали кривые в программе Prism (нелинейная регрессия: log ингибитора по сравнению с эффектом дозы с тремя параметрами) для определения констант блокирования.

На фиг. 6A-6D продемонстрировано, что антитела против сортилина ингибируют дозозависимым способом связывание програнулина человека с сортилином человека, а програнулин мыши с сортилином мыши, экспрессируемых на клетках HEK293T. На фиг. 6A и 6B показано, что антитела S-5, S-60, S-63, S-64, S-49, S-8, S-76, S-83, S-6, S-65 и S-72 ингибируют связывание програнулина человека с сортилином человека. На фиг. 6C и 6D показано, что антитела S-1, S-6, S-26, S-30, S-39, S-44, S-24, S-81 и S-85 ингибируют связывание програнулина мыши с сортилином мыши, тогда как антитело S-49 неспособно было ингибировать связывание програнулина мыши с сортилином мыши, но вместо этого увеличивало связывание програнулина с сортилином. Результаты на фиг. 6A-6D указывают, что определенные антитела против сортилина, такие как антитело S-6, способны ингибировать связывание и програнулина человека и програнулин мыши с соответствующим белком сортилином.

На фиг. 6E изображено, что существует непрерывный диапазон способности антител против сортилина блокировать связывание PGRN с сортилином. Антитела против сортилина, которые снижают связывание програнулина с сортилином на 20% или меньше при насыщающей концентрации антител (67 нМ), обозначены неблокирующими програнулин антителами.

В табл. 9 отмечена количественная способность антител против сортилина ингибировать связывание програнулина (PGRN) с сортилином на основе данных, изображенных на фиг. 6. В табл. 9 изображено полумаксимальные концентрации (IC_{50}) блокирования и процент от максимального блокирования сортилина: связывание програнулина указанными антителами против сортилина (при 150 нМ IgG). "NT" обозначает, что антитела не исследовали.

Таблица 9
Блокирующие антитела, которые ингибируют взаимодействие PGRN/SORT1

Антитело	IC ₅₀ блокир. Bio-hPGRN (нМ)	% макс. блокир. при 150 нМ Bio-hPGRN	IC ₅₀ блокир. Bio-mPGRN (нМ)	Макс. блокир. при 150 нМ Bio-mPGRN
S-83	2, 4	77, 4	NT	NT
S-64	2, 6	82, 5	NT	NT
S-5	2, 7	78, 5	NT	NT
S-63	2, 8	82, 4	NT	NT
S-60	3, 2	85, 6	NT	NT
S-76	3, 2	79, 2	NT	NT
S-6	12, 2	50, 1	7, 7	79, 8
S-72	14, 7	68, 7	NT	NT
S-65	36, 2	63, 4	NT	NT
S-49	36, 6	82, 3	NT	NT
S-8	47, 3	62, 73	NT	NT
S-1	NT	NT	12, 9	77, 9
S-24	NT	NT	12, 1	70, 1
S-26	NT	NT	3, 6	80, 6
S-30	NT	NT	0, 8	92, 2
S-39	NT	NT	28, 2	54, 4
S-44	NT	NT	5, 0	73, 0
S-81	NT	NT	1, 6	80, 8
S-85	NT	NT	1, 8	81, 6

Блокирование програнулина увеличивалось с комбинациями антител к сортилину.

На фиг. 7 показано синергическое влияние комбинаций антител против сортилина, которые блокируют связывание програнулина. Вкратце, клетки HEK293T, экспрессирующие рекомбинантный сортилин человека, инкубировали с 15 нМ биотинилированного програнулина с 67 нМ антител S-49 или S-64, или S-16, вместо с 67 нМ изотипного контрольного антитела или различных комбинаций S-49 или S-64 друг с другом или с S-16 (каждое антитело при 67 нМ). Связанный програнулин выявляли стрептавидином-APC (1:100, BD Biosciences) и количественно определяли, как медианную интенсивность флуоресценции APC. Результаты на фиг. 7 демонстрируют, что блокирование програнулина человека увеличивается в комбинации антител S-49 и S-16, комбинации антител S-64 и S-16 и комбинации антител S-49 и S-64, по сравнению с блокирующей програнулин способностью любого из антител самостоятельно. Эти результаты указывают, что комбинации антител против сортилина могут быть более эффективными, чем антитела против сортилина поодиночке.

Экспрессирующие сортилин клетки связывают и поглощают эндоцитозом програнулин.

Для получения результатов, изображенных на фиг. 8, клетки HEK293T, экспрессирующие сортилин или LacZ (контроль), инкубировали с програнулином (PGRN) до 60 мин при 37°C. Наблюдали времязависимое связывание и эндоцитоз PGRN флуоресцентной микроскопией. Рекомбинантный програнулин человека (Adipogen) метили DyLight 650 (Life Technologies, г. Карлбад, штат Калифорния). Клетки транзигентно трансфицировали сортилином человека или lacZ (контроль) и GFP с использованием Fugene, и собирали через 24 ч. GFP экспрессировался либо вторым вектором (Тороз. 3, Invitrogen), либо располагался на том же векторе, разделенном IRES (pCMV6-AC-IRES-GFP, Origene). Полноразмерный сортилин использовали либо немаркированным (Тороз. 3), либо с С-концевым маркером тус (pCMV6-AC-IRES-GFP). Затем клетки помещали на предметные стекла с камерой, покрытые поли-L-лизин. Через 4-6 ч клетки промывали бессывороточной средой OptiMem и добавляли 40 нМ програнулина-650 с 10 мкМ сортилинового пропептида в качестве блокатора или без него. Клетки инкубировали при 37°C до 60'. Впоследствии клетки фиксировали в 4% параформальдегида, промывали в ФСБ и визуализировали на флуоресцентном микроскопе Nikon.

На фиг. 8А показано увеличенное связывание и эндоцитоз програнулина с экспрессирующими сортилин клетками при увеличенном времени инкубации, как проанализировано флуоресценцией DyLight-650. Наблюдали только пренебрежимо малое связывание програнулина, когда клетки экспрессировали контрольный белок LacZ или когда клетки совместно инкубировали с 10 мкМ блокирующего сортилинового пропептида.

На фиг. 8В-8Е изображено анализ FACS, количественно определяющий эндоцитоз програнулина и способность блокирующего сортилинового пропептида ингибировать эндоцитоз програнулина. Флуоресцентно меченый програнулин (PGRN-DyLight650) человека добавляли к сортилину человека (Sort)

(фиг. 8B) или сортилину мыши (Sort) (фиг. 8C), или контрольным клеткам HEK293T, а количество связанного и поглощенного эндоцитозом програнулина определяли FACS путем измерения медианной интенсивности флуоресценции экспрессирующих сортилин клеток. На фиг. 8D и 8E продемонстрировано количественное определение способности сортилинового пропептида ингибировать эндоцитоз програнулина Sort человека (фиг. 8D) или Sort мыши (фиг. 8E).

Пример 5. Увеличение уровней секретированного програнулина в клетках, обработанных антителами к сортилину.

Увеличение внеклеточных уровней програнулина.

Клетки астроцитомы человека U-251 помещали на 96-луночные планшеты и инкубировали в течение ночи. На следующее утро добавляли блокирующие антитела против сортилина (от S-1 до S-10, S-12, от S-14 до S-16, от S-18 до S-22, от S-24 до S-26, от S-28 до S-30, S-32, S-34, S-39, S-40, от S-42 до S-45, от S-48 до S-51, S-55, от S-57 до S-61, S-63, S-64, S-65, S-67, S-69, от S-71 до S-76, S-78 и от S-81 до S-85), а также позитивное блокирующее антитело (козла против сортилина человека (gtSort) от R&D Systems, AF3154) и изотипное контрольное антитело (IgG козла (gt), ADI-88 (IgG1 человека) и ADI-89 (IgG1 человека) в конечном разбавлении 50 нМ или 5 нМ, и таким образом инкубировали клетки в течение 72 ч. Затем собирали среду и концентрацию програнулина в образцах среды измеряли с использованием набора ELISA DuoSet для програнулина человека.

Как показано на фиг. 9A-9D, блокирование связывания програнулина с сортилином с использованием различных антител против сортилина приводило к 3-кратному увеличению уровня програнулина, секретированному в среду клеток U-251. Фиг. 9A и 9C показаны результаты для 50 нМ добавленных антител и фиг. 9B и 9D показаны результаты для 5 нМ добавленных антител. Результаты на фиг. 9A и 9B демонстрируют, что субпопуляция одного класса антител против сортилина, принадлежащего к бинам 3/4 и 4 (включая, например, S-8, S-49 и S-60) не только блокирует связывание програнулина с сортилином, но фактически увеличивает уровень эндогенного програнулина в клетках U-251, которые естественным образом экспрессируют и сортилин и програнулин. Более того, результаты на фиг. 9C и 9D дополнительно демонстрируют, что второй класс антител против сортилина, принадлежащих к бинам 1/2, 2 и 3 (включая, например, S-2, S-14, S-15, S-18, S-19, S-20, S-21, S-22, S-29, S-51, S-57, S-61 и S-82), которые не блокируют связывание програнулина с сортилином, или только слабо блокируют связывание програнулина с сортилином, тоже способен индуцировать увеличение уровня эндогенного програнулина в клетках U-251.

Уменьшение уровней сортилина на клеточной поверхности.

После инкубирования клеток U-251 с 50 нМ антител против сортилина в течение 72 ч, как описано выше, клетки собирали с помощью трипсина, промывали в ФСБ и маркировали антителом против сортилина S-20 (связывание которого значимо не конкурировало с блокирующими програнулин антителами). После инкубирования клеток с 5 мкг/мл S-20 в течение одного часа на льду, клетки промывали три раза в ФСБ+2% FBS, а затем инкубировали с 5 мкг/мл вторичного антитела против PE человека (Southern Biotech). Затем клетки снова промывали и количественно определяли связывание S-20 с использованием FACSCanto™, как медианную интенсивность флуоресценции PE.

На фиг. 10A показано, что определенные антитела против сортилина снижают уровни сортилина на клеточной поверхности у клеток U-251, с антителами, которые индуцируют самое сильное увеличение секретированного програнулина (например, S-2, S-19 и S-22) также индуцируют самое сильное уменьшение уровней сортилина на клеточной поверхности. Такие антитела, как S-64 и S-5, которые не увеличивают уровни сортилина на клеточной поверхности, были неспособны увеличивать внеклеточные уровни програнулина, несмотря на их способность блокировать связывание програнулина с сортилином, а также, или лучше чем способность блокировать програнулин антител S-49, S-60. На фиг. 10B показано, что определенные антитела против сортилина снижают уровни сортилина на клеточной поверхности у мышинных клеток Neuro-2A (N2A). В общем, антитела, которые снижают уровни сортилина на клеточной поверхности у клеток U-251 человека, также снижают уровни сортилина на клеточной поверхности у мышинных клеток N2A. Эти результаты указывают, что снижение уровней сортилина на клеточной поверхности представляет собой универсальную активность этих антител и, таким образом, антитела также возможно способны снижать уровни сортилина на клеточной поверхности у других типов клеток как *in vitro*, так и *in vivo*.

На фиг. 10C и 10D изображено уровни сортилина на клеточной поверхности в клетках U-251, которые инкубировали с другой концентрацией антител против сортилина в течение 72 ч. Антитела против сортилина индуцируют дозозависимое уменьшение в экспрессии сортилина на клеточной поверхности. Уменьшение уровней сортилина отображено уменьшенной интенсивностью флуоресценции (MFI) для антитела S-20, связывающегося с сортилином. На фиг. 10E изображено количественное определение (с использованием анализа ELISA) соответствующих уровней PGRN в среде клеток U-251, которых инкубировали с перечисленными антителами в течение 72 ч. Антитела против сортилина, которые уменьшают уровни сортилина на клеточной поверхности, также вызывают дозозависимое увеличение уровней внеклеточного PGRN.

На фиг. 10F показано, что уровни сортилина на клеточной поверхности сильно и обратимо корре-

лировали с кратностью увеличения внеклеточных уровней програнулина (PGRN). На основе этих результатов, антитела против сортилина, которые уменьшают уровни сортилина на клеточной поверхности, также увеличивают внеклеточные уровни програнулина. Более того, антитела против сортилина, которые уменьшают уровни сортилина на клеточной поверхности и увеличивают внеклеточные уровни програнулина (например, S-49, S-60 и S-8), принадлежат к бинам антител 2, 3, 4 или бинам без категории (табл. 5). Таким образом, результаты показывают, что дополнительные антитела против сортилина, которые принадлежат к таким же бинам, что и антитела S-49, S-60 и S-8 (антитела, которые принадлежат к такому же бину, конкурируют друг с другом за связывание с сортилином), также будут способны снижать уровни сортилина на клеточной поверхности и увеличивать внеклеточные уровни програнулина.

В табл. 10 указаны антитела, которые способны уменьшать уровни сортилина на клеточной поверхности клеток U-251 человека и/или мышинных клеток N2A и/или увеличивать внеклеточные уровни програнулина. Антитела перечислены в порядке от самой сильной до самой слабой активности. "N. T. " обозначает, что антитела не исследовали.

Таблица 10
Активности антител против сортилина

Антитело	Процент снижения уровней сортилина у клеток U251	Процент снижения уровней сортилина у клеток N2A	Кратность увеличения уровней програнулина у клеток U251
S-02	96, 24	65, 95	2, 07
S-19	93, 37	86, 51	1, 64
S-82	92, 95	N. T.	1, 79
S-22	92, 74	87, 68	1, 68
S-29	90, 76	53, 81	1, 50
S-20	89, 54	94, 01	1, 80
S-15	87, 82	76, 08	1, 90
S-18	85, 69	57, 95	1, 44
S-28	85, 00	51, 14	1, 40
S-21	78, 70	71, 88	1, 57
S-57	77, 86	74, 55	1, 79
S-51	75, 92	80, 67	1, 60
S-14	75, 38	58, 54	1, 62
S-55	73, 02	67, 72	1, 45
S-61	70, 33	62, 68	1, 51
S-49	64, 59	56, 74	2, 19
S-60	59, 45	N. T.	2, 24
S-08	55, 82	78, 42	1, 85
S-83	48, 11	N. T.	1, 46
S-45	45, 80	N. T.	1, 35
S-63	45, 03	22, 21	1, 50
S-06	42, 47	45, 14	1, 43
S-72	39, 29	39, 57	1, 51
S-64	37, 43	N. T.	1, 21
S-65	37, 34	N. T.	1, 37
S-66	27, 22	N. T.	1, 19
S-69	23, 04	N. T.	1, 08

S-74	22, 11	N. T.	1, 18
S-76	20, 32	N. T.	1, 15
S-05	18652	N. T.	1, 18
S-81	18, 23	51, 26	1, 24
S-30	17, 98	35, 16	1, 24
S-26	17, 06	47, 30	1, 32
S-12	12, 01	N. T.	1, 18
S-67	11, 08	N. T.	1, 00
S-44	9, 40	27, 97	1, 08
S-39	9, 31	14, 93	1, 05
S-71	9, 26	N. T.	1, 04
S-43	6, 06	N. T.	1, 03
S-85	4, 92	31, 56	1, 11
S-34	4, 49	N. T.	0, 94
S-01	2, 84	15, 74	1, 15
S-24	0, 35	35, 88	0, 78

Увеличение уровней програнулина в головном мозге мышей.

Мышам Tg2576 возрастом четырнадцать месяцев вливали инфузией (через имплантированные носы Alzet 1002) в течение двух недель всего 240 мкг антитела козла (gt) против сортилина мыши (R&D Systems, AF2934) или полоклонального антитела-IgG козла (gt), или только буферный раствор aCSF (n=3/группу). Мышей впоследствии умерщвляли и головной мозг рассекали на левосторонний и правосторонний гиппокамп, лобную кору и затылочную кору, всего на 6 блоков для каждого животного. Блоки немедленно экстрагировали в N-Per (Thermo Scientific Pierce) или быстро замораживали и впоследствии экстрагировали позже. Для выделения агрегированного пептида А-бета42, осадок фракции нерастворимых белков промывали TBSX, ресуспендировали в 70% муравьиной кислоты до 150 мг/мл на основе массы осадка и смешивали путем вращения при комнатной температуре в течение 2 ч с периодическим перемешиванием на вихревой мешалке. Образцы центрифугировали (100000×g, 1 ч при 4°C), а растворимую в муравьиной кислоте фракцию нейтрализовали 20 объемами 1 М основания трис, разлитого по аликвотам и замороженного при -80°C. Во всех экстрактах проводили измерения на содержание белка с использованием BCA (Thermo Scientific Pierce) или спектрофотометрии при A280.

Уровни програнулина мыши измеряли с использованием набора R&D Systems DuoSet ELISA. Уровни растворимого и нерастворимого А-бета42 измеряли с использованием набора ELISA от Life Technologies. Уровни в головном мозге антитела козла против сортилина измеряли с использованием специально разработанного анализа ELISA. Вкратце, 2 мкг/мл рекомбинантного сортилина мыши (R&D Systems) в ФСБ связывали с планшетом в течение ночи при 4°C на планшете Immulon для ELISA. На следующий день планшет промывали в ФСБ+0,05% TWEEN20 и блокировали в ФСБ+1% БСА в течение 1 ч при КТ. Добавляли 100 мкл разбавленных образцов и инкубировали в течение 1 ч при КТ. Планшеты промывали и впоследствии инкубировали с 100 мкл антитела против антитела козла для выявления с HRP (1:20000, Jackson Immuno). Планшеты снова промывали и инкубировали с 100 мкл субстрата TMB до развития окрашивания. Реакцию останавливали добавлением 50 мкл 2N серной кислоты и количественно определяли развитие окрашивания с использованием считывающего устройства для планшетов Biotek.

По сравнению с контрольными группами (gt IgG и самостоятельно буферный раствор aCSF) вливание в головной мозг мышей поликлонального антитела козла против сортилина приводило к сильному увеличению уровней програнулина в всех трех животных во всех трех изученных участках головного мозга (фиг. 11A и 11B). Увеличение уровней програнулина было самым сильным в правом полушарии, которое находится с одной стороны с местом вливания (фиг. 11B). В соответствии с этими результатами уровни антитела против сортилина были самыми высокими в участках головного мозга с той же стороны (гиппокамп > лобная кора > затылочная кора) (фиг. 11C). Когда концентрацию антитела откладывали на графике с уровнями програнулина, наблюдали сильную положительную корреляцию со значением R квадрат 0,92 (фиг. 11D).

На фиг. 11E и 11F показаны уровни пептида А-бета42, измеренные в экстрактах головного мозга с использованием ELISA от Life Technologies. На фиг. 11E показано уровни пептида А-бета42 в нерастворимой, экстрагированной муравьиной кислотой, белковой фракции, а фиг. 11F показано уровни пептида А-бета42 в растворимой белковой фракции. Результаты показывают, что оказывается антитело против сортилина влияет на уровни пептида А-бета42 в нерастворимой, экстрагированной муравьиной кислотой, белковой фракции.

Пример 6. Блокирование связывания pro-NGF с сортилином.

Анализ ППР Biacore T200 применяли для проверки блокирования связывания pro-NGF с сортилином антителами против сортилина S-28, S-5, S-1, S-6, S-65, S-83, S-72, S-8, S-49, S-60, S-63, S-64 и S-76. Данные ППР собирали при 25°C на приборе Biacore T200 и анализировали с использованием программ-

ного обеспечения для оценки BiaCore T200, версия 2.0. Использовали HBS-EP+ (100 mM HEPES, 1, 5 M NaCl, 30 mM ЭДТК, 0,5% об/об поверхностно-активного вещества P20, pH 7,4) в качестве подвижного буфера и для подготовки реактивов.

His-меченый сортилин человека (200 nM, R&D Systems) захватывали на сенсорном чипе CM5, иммобилизованном с анти-His IgG мыши (время контактирования 60 с, скорость потока 30 мкл/мин, время диссоциации 0 с). Пропускали pro-NGF человека (400 nM) или буферный раствор HBS-EP+ через поверхность чипа (время контактирования 60 с, скорость потока 30 мкл/мин, время диссоциации 0 с). Пропускали антитело против сортилина (200 nM) через поверхность чипа (время контактирования 60 с, скорость потока 30 мкл/мин, время диссоциации 30 с). Поверхность чипа регенерировали между циклами с использованием 10 mM глицин-HCl, pH 1,7 (время контактирования 75 с, скорость потока 30 мкл/мин, время стабилизации 60 с). Получали результирующий сигнал ППП как разность в ответе от измерений, выполненных на пустой проточной ячейке.

Результаты, показанные на фиг. 12A-12C, демонстрируют, что связывание определенных антител против сортилина с сортилином может частично блокироваться pro-NGF. На фиг. 12A показано экспериментальные настройки. На фиг. 12B показано графики ответа для контрольного антитела (S-28), которое не блокирует програнулин. Связывание S-28 с сортилином не блокируется предварительным инкубированием с pro-NGF. Фиг. 12C показано, что связывание антител против сортилина S-1 и S-65 с сортилином наиболее сильно блокируется связыванием pro-NGF с сортилином (RU=единица ответа).

Пример 7. Определение параметров терапевтического применения блокирующих сортилин антител с использованием достоверных животных моделей травматического повреждения головного мозга.

Терапевтическое применение блокирующих сортилин антител можно исследовать на достоверных животных моделях травматического повреждения головного мозга (Tanaka, Y et al., (2013) *Neuroscience* 231 49-60).

Например, можно использовать модель травматического повреждения головного мозга, которая вызывает активацию микроглии и астроцитов. Используются самцы мышей C57BL/6J ДТ возрастом восьми или девяти недель, или гетерозиготные по програнулину мыши. Мышей приобретали в Charles River Laboratories или Jackson labs. Мышей анестезируют путем внутрибрюшинного введения гидрохлорида ксилазина (8 мг/кг) и хлоралгидрата (300 мг/кг), растворенного в стерильном физиологическом растворе и затем помещают в стереотаксический аппарат (Narishige, г. Токио, Япония). Производят разрез по скальпу и оголяют череп. С черепа удаляют надкостную плеву, просверливают отверстие над правым полушарием головного мозга с помощью бормашины и твердую мозговую оболочку удаляют концом иглы. Используют катетер из нержавеющей стали с наружным диаметром 0,5 мм для нанесения продольной колотой раны в правом полушарии. Канюлю располагают на 1,3 мм латерально от средней линии и на 1 мм сзади от брегмы, и вводят в мозг до тех пор, пока конец не достигнет глубины 2 мм. Затем канюлю смещают на 2 мм каудально (брегма 3 мм) и затем сдвигают назад рострально на 2 мм в исходное положение. Наконец, канюлю удаляют из мозга и рану скальпа зашивают. Затем мышей лечат блокирующими сортилин антителами в соответствии со стандартными процедурами и затем анализируют гистологически и с помощью иммуофлуоресцентного окрашивания, и поведенческих тестов.

Пример 8. Определение параметров терапевтического применения блокирующих сортилин антител с использованием модели нейровоспалительной болезни Паркинсона и потери нейронов после индуцированного токсином или индуцированного синуклеином повреждения.

Терапевтическое применение блокирующих сортилин антител также можно исследовать на модели нейровоспаления и потери нейронов после индуцированного токсинами повреждения (Martens, LH et al., (2012) *The Journal of Clinical Investigation*, 122, 3955).

Трехмесячным мышам вводят 4 в. 6. инъекции МРТР в сутки в течение 2 дней (4 мкг/г массы тела) (Sigma-Aldrich) или ФСБ. МРТР разрушает дофаминергические нейроны, что перерастает в болезнь Паркинсона. Мышей лечат блокирующими сортилин антителами в соответствии со стандартными протоколами, а затем анализируют с помощью стереологического подсчета для количественного определения дофаминовых нейронов и микроглии в SNpc. Как описано. В альтернативном варианте можно использовать модели болезни Паркинсона с экспрессией генетических мутаций в гене альфа-синуклеина (A53T, A30P и E46K) или сверхэкспрессии альфа-синуклеина (Maguire-Zeiss (2008) *Pharmacol Res*; 58(5-6): 271-280; Chesselet (2008) *Exp Neurol* 209: 22-27).

Пример 9. Определение параметров терапевтического применения блокирующих сортилин антител с использованием животных моделей старения, эпилептических припадков, повреждения спинного мозга, дистрофии сетчатки, лобно-височной деменции и болезни Альцгеймера.

Терапевтическое применение блокирующих сортилин антител также можно исследовать на животных моделях старения, эпилептических припадков, повреждения спинного мозга, дистрофии сетчатки, лобно-височной деменции и болезни Альцгеймера, как описано ранее (например, Beattie, MS et al., (2002) *Neuron* 36, 375-386; Volosin, M et al., (2006) *J. Neurosci.* 26, 7756-7766; Nykjaer, A et al., (2005) *Curr. Opin. Neurobiol.* 15, 49-57; Jansen, P et al., (2007) *Nat. Neurosci.* 10, 1449-1457; Volosin, M et al., (2008) *J. Neurosci.* 28, 9870-9879; Fahnstock, M et al., (2001) *Mol. Cell Neurosci.* 18, 210-220; Nakamura, K et al., (2007) *Cell Death. Differ.* 14, 1552-1554; Yune, T et al., (2007) *Brain Res.* 1183, 32-42; Wei, Y et al., (2007)

Neurosci. Lett. 429, 169-174; Provenzano, MJ et al., (2008) Laryngoscope 118, 87-93; Nykjaer, A et al., (2004) Nature 427, 843-848; Harrington, AW et al., (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 101, 6226-6230; Teng, HK et al., (2005) J. Neurosci. 25, 5455-5463; Jansen, P et al., (2007) Nat. Neurosci. 10, 1449-1457; Volosin, M et al., (2008) J. Neurosci. 28, 9870-9879; Fan, YJ et al., (2008) Eur. J. Neurosci. 27, 2380-2390; Al-Shawi, R et al., (2008) Eur. J. Neurosci. 27, 2103-2114; и Yano, H et al., (2009) J. Neurosci. 29, 14790-14802).

Пример 10. Определение параметров терапевтического применения блокирующих сортилин антител с использованием моделей атеросклероза.

Терапевтическое применение блокирующих сортилин антител можно также исследовать на моделях атеросклероза, как описано ранее (например, Lance, A et al., (2011) Diabetes, 60, 2285; и Kjolby, M et al., (2012) Cell Metabolism 12, 213-223).

Пример 11. Определение параметров терапевтического применения блокирующих сортилин антител с использованием модели инфекции.

Терапевтическое применение блокирующих сортилин антител можно также исследовать на модели инфекции. Например, можно использовать *Listeria monocytogenes* или другую инфекцию у нормальных или гетерозиготных по програнулину мышей, как описано ранее (например, Yin, F et al., (2009) J. Exp. Med, 207, 117-128).

Пример 12. Защита от ЕАЕ и купризона интактного животного *in vivo*.

Взрослым самкам мышей C57BL/6 в возрасте 7-9 недель (полученным от Charles River Laboratories) вводят в основание хвоста с обеих сторон 200 мкл инокулята, содержащего 100 мкг миелинового пептида гликопротеина олигодендроцитов 35-55 (аминокислоты MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK (SEQ ID NO: 707); SeqLab) и 1 мг *Mycobacterium tuberculosis* H37 Ra (Difco) в неполном адьюванте Фрейнда (Difco). Коклюшный токсин (200 нг, List Biological Laboratories) вводят в день 0 и на день 2 после иммунизации. Клинические признаки оценивают следующим образом: 0, отсутствие клинических признаков; 1, полностью поврежденный хвост; 2, полностью поврежденный хвост и ненормальная походка; 3, парализованная одна задняя конечность; 4, полный парализованных задних конечностей и 5, паралич или отмирание передних и задних конечностей. Для экспериментов используют мышей только с проявлением заболевания (клинический показатель 1 или более) на день 14. Агонистические антитела против сортилина и/или биспецифические антитела к сортилину вводят внутрибрюшинно или внутривенно мышам, больным ЕАЕ, в день первых клинических симптомов или в любое другое желаемое время (PLoS Med (2007) 4(4):e124).

Молодые или взрослые мыши дикого типа (WT) получают стандартную диету (Harlan), содержащую 0,2% купризона (CPZ) порошкообразный оксалат бис(циклогексилиденгидразид) (Sigma-Aldrich) в течение 4,6 или 12 недель. Для гистологического и иммуногистохимического анализов головной мозг удаляют после перфузии мыши 4% параформальдегидом (ПФА), фиксируют в 4% ПФА в течение 24 часов с последующим погружением в 30% сахарозу в течение 24-48 часов. Для оценки целостности и повреждения миелина, а также клеточной пролиферации и секторов воспаления головной мозг мыши окрашивают с помощью антител к MBP (1:100; Abcam, ab7349), к dMBP (1:2000; Millipore, ab5864), к β APP (1:100, Invitrogen, 51-2700), к SMI-31 (1:1000, Covance, smi-31R), к Iba1 (1:600, Wako, 019-19741), к BrdU (1:250, Abcam, Ab1893), к GFAP (1:200, Invitrogen, 13-0300), к iNOS (1:100, BD Pharmingen, 610329), к LPL (1:400, от Dr. G. Olivecrona) и к МНС II (1:100; BD Pharmingen, 553549). Для определения поведенческого влияния антител мышей анализировали на локомоторную активность с использованием прозрачного ограждения из полистирола и компьютеризированного оборудования с фотодатчиками. Были проанализированы общие переменные активности (общая способность передвигаться, вертикальное вставание на задние конечности), а также показатели эмоциональности, включая проведенное время, пройденное расстояние и вхождения. Ряд сенсомоторных тестов проводится для оценки баланса (планка и платформа), силы (перевернутая решетка), координации (стержень и наклонные экраны) и инициации движения (инициация ходьбы). Координация движения и равновесие изучают с использованием протокола с использованием вращающегося стержня (Cantoni et al., Acta Neuropathol (2015) 129(3): 429-47).

Пример 13. Определение параметров терапевтического применения антагонистических или биспецифических антител к сортилину на достоверных животных моделях травматического повреждения головного мозга.

Терапевтическое применение сортилина и/или биспецифических антител к сортилину исследовали на достоверных животных моделях травматического повреждения головного мозга (Tanaka, Y et al., (2013) Neuroscience 231 49-60). Например, используется модель травматического повреждения головного мозга, которая вызывает активацию микроглии и астроцитов. Используются самцы мыши C57BL/6J WT возрастом восьми или девяти недель, или гетерозиготные по програнулину мыши (приобретенные у Charles River Laboratories или Jackson Laboratories). Мышей анестезируют путем внутрибрюшинного введения гидрохлорида ксилазина (8 мг/кг) и хлоралгидрата (300 мг/кг), растворенного в стерильном физиологическом растворе и затем помещают в стереотаксический аппарат (Narishige, г. Токио, Япония). Производят разрез по скальпу и оголяют череп. С черепа удаляют надкостную плеву, просверливают отверстие над правым полушарием головного мозга с помощью бормашины и твердую мозговую оболочку удаляют концом иглы. Используют катетер из нержавеющей стали с наружным диаметром 0,5 мм для

нанесения продольной колотой раны в правом полушарии. Канюлю располагают на 1,3 мм латерально от средней линии и на 1 мм сзади от брегмы, и вводят в мозг до тех пор, пока конец не достигает глубины 2 мм. Затем канюлю смещают на 2 мм каудально (брегма 3 мм) и затем сдвигают назад рострально на 2 мм в исходное положение. Наконец, канюлю удаляют из мозга и рану скальпа зашивают. Затем мышей обрабатывают антагонистическими антителами против сортилина и/или биспецифическими антителами к сортилину в соответствии со стандартными процедурами и затем анализируют гистологически и с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания, и поведенческих тестов.

Пример 14. Определение параметров терапевтического применения антител к сортилину и/или биспецифических антител к сортилину на модели нейровоспаления и потери нейронов после индуцированного токсинным повреждением.

Терапевтическое применение антител к сортилину и/или биспецифических антител к сортилину исследуют на модели нейровоспаления и потери нейронов после индуцированного токсинами повреждения (Martens, LH et al., (2012) *The Journal of Clinical Investigation*, 122, 3955). Трехмесячным мышам вводят 4 внутривенные инъекции MPTP (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин) в сутки в течение 2 дней (4 мкг/г массы тела) (Sigma-Aldrich) или ФСБ. Мышей обрабатывают агонистическими антителами против сортилина и/или биспецифическими антителами к сортилину в соответствии со стандартными протоколами, а затем анализируют с помощью стереологического подсчета для количественного определения дофаминовых нейронов и микроглий в компактной части черного вещества (SNpc), как описано.

Пример 15. Анализ способности антител против сортилина стимулировать жизнеспособность врожденных иммунных клеток и/или нейронов.

Макрофаги, полученные из костного мозга мышей дикого типа (WT), культивировали в присутствии М-КСФ, или культуры нервных клеток в стандартных условиях подвергали воздействию антитела к сортилину и измеряли жизнеспособность клеток. Макрофаги, выделенные из костного мозга мышей WT и КО, высевали на необработанные для культивирования тканей 96-луночные планшеты, предварительно покрытые либо антителами против сортилина, либо контрольными антителами. Клетки культивировали в течение 48 часов в присутствии 10 нг/мл М-КСФ. Анализ жизнеспособности проводили с использованием набора Cell Titer Glo (Promega). Планшеты считывали с помощью считывающего устройства для микропланшетов BioTek Synergy с использованием программного обеспечения GEN5 2.04.

Пример 16. Анализ противоинсультного эффекта антител к сортилину.

Временная окклюзия средней мозговой артерии (МКАО) - модель, которая является очень похожей на человеческий инсульт и используется для индукции ишемического инсульта у мышей. Хирургическую мононить (70SPRe, Doccol Corp, США) вводят во внутреннюю сонную артерию через разрез правой общей сонной артерии. Среднюю мозговую артерию окклюдировывают в течение 30 мин с интервалом времени реперфузии (6 часов, 12 часов, 24 часа, 2 дня, 7 дней и 28 дней). Влияние хирургического вмешательства контролируют с использованием контрольных животных через 12 ч и на 7 день. Контрольные животные подвергаются той же хирургической процедуре, но без окклюзии средней мозговой артерии. Животные с МКАО лечат агонистическими антителами против сортилина или контрольными антителами и исследуют на инфарктную волюметрию, острый воспалительный ответ (12 ч реперфузии), транскрипцию провоспалительных цитокинов TNF α , IL-1 α и IL-1 β , активность микроглий (CD68, Iba1), транскрипцию хемокинов CCL2 (Mx1), CCL3 (MIP1 α) и рецептора хемокина CX3CR1, и инвазию CD3-позитивных Т-клеток (Sieber et al. (2013) *PLoS ONE* 8(1): e52982).

Пример 17. Анализ влияния антител против сортилина на болезнь Альцгеймера.

Для оценки способности антител против сортилина замедлять, предотвращать или способствовать регрессии развития болезни Альцгеймера (AD), использовали мышей 5X FAD. Мыши 5X FAD сверхэкспрессируют мутантный APP человека (695) вместе со шведской (K670N, M671L), флоридской (I716V) и лондонской (V717I) мутациями наследственной болезни Альцгеймера (FAD) вместе с PS1 человека, несущей две FAD-мутации, M146L и L286V. Оба трансгена регулируются промотором Thyl мыши для направления сверхэкспрессии на мозг и повторения основных особенностей AD. Мыши, получавшие агонистические антитела против сортилина или контрольные антитела, исследовали на нагрузку бляшками А-бета с помощью иммуногистохимии и ELISA тканевых экстрактов. Их дополнительно исследовали на количество микроглий в головном мозге и на уменьшение когнитивного дефицита с использованием водного лабиринта Морриса, пространственного обучения и задач на память, радиального водного рукавного лабиринта, пространственного обучения и задач на память, Y-лабиринта (количественно определяет спонтанное чередование как меру восприятия пространства), предпочтения новизны в тесте открытое поле, оперантного научения для оценки обучения и памяти и условно-рефлекторного замирания (веб-сайт mousebiology.org; Wang et al., (2015) *Cell*, pii: S0092-8674 (15) 00127-0).

Пример 18. Анализ защитного эффекта антител к сортилину при заживлении ран.

Для оценки способности антител против сортилина улучшать заживление ран толстой кишки после травмы, использовали мышиную модель биопсийного повреждения в толстой кишке. В этой модели эндоскоп с внешней операционной оболочкой вставляется в среднюю нисходящую ободочную кишку, а слизистая оболочка обследуется до аноректального перехода. Затем одну полнослойную площадь всей слизистой и подслизистой оболочек удаляют с помощью гибких биопсийных щипцов с диаметром 3 по

французской шкале диаметров, избегая при этом проникновения в мышечную оболочку. Каждая мышца получила биопсийное повреждение в 3-5 участках вдоль дорсальной стороны толстой кишки (см., например, Seno H, 2008, *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009 Jan 6; 106(1):256-261). Когорты мышей лечили анти-телами к сортилину через 2 или 3 дня после биопсийного повреждения. Мыши отслеживаются каждый день в течение 15 дней для проверки потери веса и заживление ран путем измерения площади поверхности повреждений.

Пример 19. Анализ защитного эффекта антител к сортилину при заживлении ран.

Антагонистические антитела против сортилина уменьшают накопление и/или функционирование воспалительных макрофагов и, как следствие, замедляют, предупреждают и/или лечат возрастную макулярную дегенерацию (AMD). AMD является дегенеративным заболеванием наружной сетчатки. Считается, что воспаление, особенно воспалительные цитокины и макрофаги, способствуют прогрессированию заболевания AMD. Наличие макрофагов в непосредственной близости от очагов AMD документировали в друзах, мембране Бруха, сосудистой оболочке глаза и сетчатке. Макрофаги выделяют тканевой фактор (ТФ) и фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС), который запускает образование новых кровеносных сосудов у пациентов, показывающих хориоидальную неоваскуляризацию.

Тип макрофагов, присутствующих в макулярной сосудистой оболочке глаза, изменяется с возрастом, демонстрируя повышенные уровни макрофагов M2 в глазах пожилых людей по сравнению с глазами более молодых людей. Тем не менее, у прогрессирующей AMD желтого пятна имелись более высокие отношения M1 к M2 по сравнению с обычными аутопсированными глазами аналогичного возраста. (см., например, Cao X et al, (2011), *Pathol Int* 61(9): pp528-35). Это предполагает связь между классической активизацией макрофагов M1 в глазу при позднем проявлении прогрессирования AMD.

Клетки-микроглии сетчатки представляют собой резидентные тканевые макрофаги, которые также обычно присутствуют во внутренней сетчатке. В случае повреждения микроглии может быть активирована и действовать как медиатор воспаления. Активированная микроглия была обнаружена в образцах тканей AMD и была предложена в качестве одного из потенциальных участников процесса воспаления, которые приводят к патогенезу AMD (Gupta et al., (2003) *Exp Eye Res.*, 76(4):463-71). Способность антагонистических антител к сортилину предотвращать, замедлять или способствовать регрессии развития AMD исследуют на одной или более моделях AMD (см., например, Pennesi et al., (2012) *Mol Aspects Med.*; 33(4): 487-509).

Общие воспалительные макрофаги (или M1 и/или активированная микроглия) документируют как такие, которые коррелируют с прогрессированием заболевания AMD и поэтому представляют собой терапевтическую мишень для антагонистических антител к сортилину. Подобная терапевтическая польза может быть достигнута при глаукоме и генетических формах дегенерации сетчатки, таких как пигментный ретинит.

Способность антител против сортилина предотвращать, замедлять или способствовать регрессии развития дегенерации ганглионарных клеток сетчатки при глаукоме исследуют на модели глаукомы (см., например, El-Danaf et al., (2015). *J Neurosci*. 11; 35(6): 2329-43; Demetriades et al., (2013) *Invest Ophthalmol Vis Sci* 54: Abstract 4940). Аналогичным образом исследуют терапевтическую пользу антител против сортилина в генетически индуцированной дегенерации сетчатки и пигментном ретините, как описано в Chiang et al., (2002) *Vision Res.*; 42(4): 517-25, и в Gargin et al, (2007) *J Comp Neurol*. 500(2): 222-238; и в "Retinal Degeneration Rat Model Resource Availability of P23H and S334 the Mutant Rhodopsin Transgenic Rats and RCS Inbred and RCS Congenic Strains of Rats," MM LaVail, June 30, 2011. Аналогичным образом исследуют терапевтическую пользу антител против сортилина на индуцированных вирусами или токсинами моделях хондроидальной и ретиальной неоваскуляризации, как описано в Hans et al., (2010) *Prog Retin Eye Res.*; 29(6): 500-519. Конечные точки таких исследований включают электроретинографию и визуализацию дна глаза, оптическую когерентную томографию, а также гистопатологический анализ.

Пример 20. Определение параметров терапевтического применения антител к сортилину и/или биспецифических антител к сортилину на модели инфекции.

Терапевтическое применение агонистических антител против сортилина и/или биспецифических антител к сортилину исследуют на модели инфекции. Например, можно использовать *Listeria monocytogenes* или другую инфекцию у нормальных мышей или гетерозиготных по програнулину мышей, как описано ранее (например, Yin, F et al., (2009) *J. Exp. Med*, 207, 117-128).

Пример 21. Определение параметров терапевтического применения антител к сортилину и/или биспецифических антител к сортилину на модели воспалительных заболеваний и патологии костей.

Терапевтическое применение антител против сортилина и/или биспецифических антител к сортилину исследуют на модели воспалительных заболеваний. Например, ревматоидный артрит или достоверная модель другого воспалительного заболевания (Mizoguchi (2012) *Prog Mol Biol Transl Sci.*, 105: 263-320; and Asquith et al., (2009) *Eur J Immunol*. 39: 2040-4). В альтернативном варианте антитела против сортилина и/или биспецифические антитела к сортилину исследуют на модели дегенерации межпозвоноковых дисков (IVD) (Zhao, PY et al., (2015). *SCIENTIFIC REPORTS*. 5: 9102).

Пример 22. Скрининг на антитела против сортилина и/или биспецифические антитела к сортилину,

которые способствуют выживаемости остеокластов, микроглий и/или нейронов.

Клетки-предшественники из мышиноного костного мозга получали путем промывки клеток тиббальных и феморальных клеток костного мозга холодным ФСБ. После одной промывки с помощью ФСБ эритроциты лизировали с использованием лизирующего буфера ACK (Lonza), дважды промывали с помощью ФСБ и суспендировали при $0,5 \times 10^6$ клеток/мл в полной среде RPMI (10% FCS, пен/стреп, Gln, пеАА) с указанными количествами 50 нг/мл М-КСФ для получения макрофагов или 10 нг/мл ГМ-КСФ. Для макрофагов типа М2 к культивируемым клеткам добавляли 10 нг/мл IL-4. Для макрофагов типа М1 к культивируемым клеткам добавляли 50 нг/мл IFN- γ . В некоторых экспериментах на день 5 к культуре клеток добавляли LPS или зимозан в диапазоне концентраций 1 мкг/мл - 0,01 нг/мл. Рекombинантные цитокины приобретали у Peprotech. Для анализа жизнеспособности макрофагов, полученных из ВМ, клетки указанного генотипа получали, как описано выше, и культивировали в ступенчато изменяющихся концентрациях МКСФ. Клетки высевали в количестве $10^5/200$ мкл в 96-луночный планшет (для анализа жизнеспособности с использованием анализа на основе люциферазы) или в количестве $0,5 \times 10^6/1$ мл в 6-луночный планшет (для подсчета методом исключения с помощью трипанового синего) на необработанных для культивирования тканей планшетах. На день 3 добавляли среду, содержащую свежий М-КСФ. В указанные моменты времени клетки осторожно снимают с планшетов с помощью 3 мМ ЭДТК и подсчитывали, используя камеру Бюркера. В некоторых экспериментах клетки также окрашивали для FACS-анализа с использованием антител к CD11b и DAPI. В альтернативном варианте клетки непосредственно инкубируют с реагентом ToxGlo (Promega) и определяли люциферазную активность. В некоторых экспериментах из культуральной среды на день 5 удаляли или не удаляли МКСФ и жизнеспособность клеток анализировали через 36 часов анализом FACS.

Зрелые клеточные культуры остеокластов дифференцируют в 24-луночных чашках с RANKL и М-КСФ. Через 4 дня полную среду заменяют бессывороточной средой для индукции апоптоза. Клетки, обработанные RANKL, ФСБ и антителом против сортилина и/или биспецифическим антителом к сортилину или изотипически сходным контрольным антителом во время ночного сывороточного голодания. Клетки фиксируют в 1% параформальдегиде и окрашивают набором на основе TUNEL (Millipore Corporation) в соответствии с инструкциями производителя. Апоптотические ядра подсчитывают с помощью микроскопа Nikon TE2000-E с увеличением 20 $\times$. Результаты выражают как процент апоптотических клеток относительно общего количества клеток в шести случайно выбранных полях двух лунок, как описано (например, Peng et al., (2010) Sci Signal., 3(122): ra38). Аналогичные анализы проводят с первичными микроглиальными клетками.

Пример 23. Продуцирование, идентификация и определение параметров аффинно зрелых антител против сортилина.

Материалы и методы.

Скрининг сортилиновых антител.

Антитела против сортилина S-2, S-15, S-22, S-60 и S-82 (называемые "исходными" антителами) были аффинно зрелыми. Вкратце, создавали диверсифицированные библиотеки антител в дрожжах для каждого из начальных исходных антител. Разнообразие создавали путем использования стандартных методик молекулярного клонирования для объединения исходного CDR-H3 тяжелой цепи и легкой цепи (LC) с существующим генетическим разнообразием в участках CDR-H1 и CDR-H2 тяжелой цепи (HC) (называется оптимизация "H1/H2"). Это привело к получению шести библиотек приблизительно размером 10^8 , которые были готовы для отбора из антител с улучшенной аффинностью. Для скрининга библиотек, использовали виды давления отбора, включавшие антигенное равновесное титрование сортилином человека и мыши, конкурентные кинетические анализы для Fab исходного антитела и применение делеселекции с полиспецифическим реагентом (как описано, например, в WO 2014/179363; Xu et al., Protein Eng Des Sel, Vol. 26(10), p. 663-670). Затем применяли проточную цитометрию с FACS для визуализации и отбора антител, с использованием стандартных методик (см., например, Chao et al. Nature Protocols, 2006). Затем требуемую популяцию проводили через дополнительные раунды отбора. Через 6 раундов обогащения высевали дрожжи с целью получения изолятов одного антитела, которое затем продуцировали и характеризовали как описано в примере 1. Таким образом получили пятьдесят антител с улучшенной аффинностью из каждого из шести начальных исходных антител.

Для второго раунда созревания аффинности выбирали три клон исходных антител: 1) S-60, так как первый раунд созревания аффинности не дал ни одного клон со значительно улучшенной аффинностью; 2) клон S-15-6 аффинно зрелого антитела и 3) клон S-15-10 аффинно зрелого антитела. Аффинно зрелые клоны отобрали для второго раунда созревания аффинности, так как отличия в аффинности и функционировании этих клонов не сильно улучшились после первого раунда созревания. Для второго раунда созревания аффинности оптимизировали как последовательности варибельного участка (VH) тяжелой цепи, так и варибельного участка (VK) легкой цепи, с частичным фокусированием на CDR-H3.

Продукция и очистка IgG и Fab антител.

Дрожжевые клоны выращивали до насыщения и затем индуцировали в течение 48 ч при 30 $^{\circ}$ C при встряхивании. После индукции дрожжевые клетки осаждали и супернатанты собирали для очистки. Им-

муноглобулины очищали с использованием колонки с белком А и элюировали уксусной кислотой, pH 2,0. Фрагменты Fab получали с помощью расщепления папаином и очищали на аффинной матрице CaptureSelect IgG-CH1 (LifeTechnologies).

Определение аффинности.

Аффинность антител против сортилина определяли путем измерения их K_D методом ForteBio и MSD. Измерения аффинности методом ForteBio проводили при комнатной температуре, в целом как описано ранее (Estepet al., MAbs. 2013 Mar-Apr; 5(2): 270-8). Вкратце, измерения аффинности методом ForteBio проводили путем нанесения иммуноглобулинов (IgG) в режиме онлайн на сенсоры ANQ. Сенсоры уравнивали в режиме оффлайн в буфере для анализа в течение 30 мин и затем контролировали в режиме онлайн в течение 60 секунд для установления базовой линии. Для измерения авидного связывания сенсоры с нанесенными IgG подвергали воздействию 100 нМ антигена (слияние Fc-сортлина человека или мыши) в течение 3 мин, после чего их переносили в буфер для анализа в течение 3 мин для измерения скорости диссоциации. Дополнительное авидное связывание определяли нанесением биотинилированного мономера сортилина на сенсоры SA и воздействием в растворе ~100 нМ IgG. Получали результаты моновалентного связывания нанесением слитых антигенов Fc-сортлина человека или мыши на сенсор ANQ с последующим воздействием ~100 нМ Fab антитела к сортину. Проводили дополнительные моновалентные измерения нанесением биотинилированного мономера сортилина человека или мыши на сенсор SA с последующим воздействием ~100 нМ Fab в растворе. Кинетические данные подбирали с использованием модели связывания 1:1 в программном обеспечении для анализа данных, предоставленным ForteBio.

Для измерений значений MSD-SET K_D проводили титрования при равновесии сортилина (SET) в ФСБ+0,1% БСА без IgG (PBSF) с рекомбинантным сортином человека или мыши, получали константу при 100 пМ и инкубировали с от 3- до 5-кратными серийными разведениями антитела, начиная с около 50 нМ. Антителами (20 нМ в ФСБ) покрывали стандартные планшеты связывания для MSD-ECL в течение ночи при 4°C или при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем планшеты блокировали 1% БСА в течение 30 мин при встряхивании со скоростью 700 об/мин, после чего проводили три промывки промывочным буфером (PBSF+0,05% Tween 20). Вносили образцы SET и инкубировали на планшетах в течение 150 с при встряхивании со скоростью 700 об/мин с последующей однократной промывкой. Антиген, захваченный на планшете, выявляли с помощью 250 нг/мл маркированного сульфметкой стрептавидина в PBSF путем инкубации на планшете в течение 3 мин. Планшеты три раза промывали промывочным буфером, а затем считывали на приборе MSD Sector Imager 2400 с использованием 1× буфера для считывания T с поверхностно-активным веществом. Процент свободного антигена наносили на график как функцию титруемого антитела в программе Prism и подбирали квадратное уравнение для получения значения K_D . Для повышения производительности использовались роботы для манипуляций с жидкостями во всех экспериментах MSD-SET, включая подготовку образцов SET.

Измерения аффинности связывания клеток выполняли при 4° с использованием клеток HEK293T либо транзientно трансфицированных сортином мыши, либо стабильно экспрессирующих сортин человека. Вкратце, собирали клетки, промывали в ФСБ и инкубировали с количеством антитела, близким к K_D антитела (K_D парентерального введения для связывания сортином человека: S2=1,1 нМ, S15=3,3 нМ, S22=2,4 нМ, S60=1,0 нМ, S82=1,4 нМ; K_D для связывания с сортином мыши: S2=6,6 нМ, S15=6,4 нМ, S22=5,0 нМ). Антитела разбавляли в буфере для FACS (ФСБ+2% FBS + 0,01% азид Na). После инкубации на льду в течение 1 ч, клетки промывали три раза в буфере для FACS и инкубировали с античеловеческим вторичным антителом конъюгированным с PE (BD Biosciences, разведение 1:100) в течение 30 мин на льду. Затем клетки дважды промывали в 200 мкл буфера для FACS и впоследствии анализировали на FACS Canto или приборе для скрининга iQE FACS (Intellicyt Corp). Для дальнейшего анализа отбирали лучшие три антитела с увеличенным связыванием с сортином человека и мыши (измеренным как медианная интенсивность флуоресценции PE).

Для определения кажущейся аффинности к экспрессирующим сортин клеткам добавляли антитела к клеткам в виде титрования 0,16-40 нМ для сортилина человека и 0,39-50 нМ для сортилина мыши и определяли их K_D связывания путем нелинейного подбора кривых (модификация OneSiteTotal, Graph Pad Prism).

Выполняли понижение регулирования сортилина в клетках U-251 и N2A, блокирование програнулина (PGRN) на клетках и секретирование PGRN клетками U-251, как описано в примере 5.

Результаты.

Активности антител против сортилина.

Клоны аффинно зрелых антител против сортилина, которые показали улучшенную аффинность по сравнению с соответствующим исходным антителом характеризовали дополнительно. После начального скрининга для дополнительного анализа отбирали все клоны аффинно зрелых антител, клоны для каждого исходного антитела.

Последовательности переменных доменов тяжелой цепи и легкой цепи антител.

Используя стандартные методики, были определены аминокислотные последовательности, кодирующие переменные домены тяжелой цепи и легкой цепи отобранных клонов аффинно зрелых анти-

тел. Последовательности CDR по EU или Kabat вариантов антитела S-2 указаны в табл. 11, вариантов антитела S-15, указаны в табл. 12, вариантов антитела S-22 указаны в табл. 13, вариантов антитела S-60 указаны в табл. 14 и вариантов антитела S-82 указаны в табл. 15.

Таблица 11

Последовательности CDR вариантов антитела против сортилина S-2 по Kabat (Antibody - Антитело)

Antibody	CDR L1	CDR L2	CDR L3	CDR H1	CDR H2	CDR H3
S-2 варианты	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFX ₁ X ₂ YX ₃ MX ₄ X ₁ - T, G, V, P, L, F, A, или R X ₂ - G, A, или S X ₃ - Y, M, или L X ₄ - H или W (SEQ ID NO: 480)	X ₁ X ₂ X ₃ FX ₄ X ₅ GX ₆ TX ₇ YAQKFQG X ₁ - W, I, или G X ₂ - I, V, или T X ₃ - N, G, или L X ₄ - N, S, V, или M X ₅ - S, G, W, или Q X ₆ - G, F, A, Y, S, N, или R X ₇ - N, R, S, или M (SEQ ID NO: 481)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-1	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFGAYYMH (SEQ ID NO: 482)	WINPNSGFTRYAQKFQG (SEQ ID NO:493)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-2	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFVAYYMH (SEQ ID NO: 483)	WINPNSGATRYAQKFQG (SEQ ID NO:494)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-3	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFGAYYMH (SEQ ID NO: 482)	WVNPNSGGTRYAQKFQG (SEQ ID NO:495)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-4	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFISYMMH (SEQ ID NO: 484)	IIGPSSGGYTSYAQKFQG (SEQ ID NO:496)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-5	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFPGYLMH (SEQ ID NO: 485)	WINPVSGSTNYAQKFQG (SEQ ID NO:497)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-6	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFGAYYMH (SEQ ID NO: 482)	WVNPNSGGTNYAQKFQG (SEQ ID NO:498)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-7	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFLAYYMH (SEQ ID NO: 486)	WINPNSGGTRYAQKFQG (SEQ ID NO:499)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-8	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFFSYMMH (SEQ ID NO: 487)	WINPSSGGNTRYAQKFQG (SEQ ID NO:500)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-9	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFTAYLMH (SEQ ID NO: 488)	WINPSSGGSTSYAQKFQG (SEQ ID NO:501)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-10	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFASYMMW (SEQ ID NO: 489)	GILPSSGGRTSYAQKFQG (SEQ ID NO:502)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-11	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFLAYYMH (SEQ ID NO: 486)	WINPSSWGSTSYAQKFQG (SEQ ID NO:503)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-12	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFTAYYMH (SEQ ID NO: 490)	WVNPNSGGTMYAQKFQG (SEQ ID NO:504)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-13	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFGYYMH (SEQ ID NO:126)	WVNPNSGGTRYAQKFQG (SEQ ID NO:505)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-14	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFGGYLMH (SEQ ID NO: 491)	WINPMSGGTRYAQKFQG (SEQ ID NO:506)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)
S-2-15	RASQSISSYLN (SEQ ID NO:7)	AASSLQS (SEQ ID NO:27)	QQSDVSPIT (SEQ ID NO:42)	YTFRAYYMH (SEQ ID NO: 492)	WINPSSQGSTSYAQKFQG (SEQ ID NO:507)	ARGKRSSGWYEGYGM DV (SEQ ID NO:180)

Таблица 12

Последовательности CDR вариантов антитела против сортилина S-15 по Kabat (Antibody - Антитело)

Antibody	CDR L1	CDR L2	CDR L3	CDR H1	CDR H2	CDR H3
S-15 варианты	RASQSX ₁ X ₂ SNLA X ₁ - V или I X ₂ - S или G (SEQ ID NO:508)	GASTRAT (SEQ ID NO:29)	QCARLGPWT (SEQ ID NO:55)	YTX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ S X ₁ - F или L X ₂ - T или A X ₃ - S или K X ₄ - Y, T, R, L, T, G, Q, или H X ₅ - Y, T, или L X ₆ - M или I (SEQ ID NO: 509)	X ₁ INPX ₂ GGX ₃ X ₄ SYAX ₅ X ₆ FX ₇ G X ₁ - I или V X ₂ - S, W, Y, V, F, L, или I X ₃ - S или T X ₄ - T или A X ₅ - Q или R X ₆ - K или R X ₇ - Q или R (SEQ ID NO: 510)	X ₁ RDPX ₂ GX ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ PX ₈ X ₈ RX ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ GX ₁₃ DV X ₁ - A, V, или T X ₂ - S, F, или G X ₃ - I или A X ₄ - A или G X ₅ - A, L, или V X ₆ - A, L, или P X ₇ - G, F, или Y X ₈ - A, G, или F X ₉ - S, G, A X ₁₀ - Y, G, P, H, или S

X11 is Y or N
X12 is Y, L, Q, or R
X13 is M or L
(SEQ ID NO: 511)

[illegible]

Таблица 13

Последовательности CDR вариантов антитела против сортилина S-22 по Kabat (Antibody - Антитело)

Antibody	CDR L1	CDR L2	CDR L3	CDR H1	CDR H2	CDR H3
S-22 варианты	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQADGHIT (SEQ ID NO:62)	X ₁ TFX ₂ X ₃ YAX ₄ X ₅ X ₁ - G или Y X ₂ - S, R, G, или T X ₃ - S, G, или N X ₄ - I или M X ₅ - S или A (SEQ ID NO:565)	GIX ₁ PX ₂ X ₃ GX ₄ AX ₅ YAQKFQG X ₁ - I или V X ₂ - I, R, G, A, S, T, или Q X ₃ - F или G X ₄ - T, R, или W X ₅ - S, N, Q, или W (SEQ ID NO:566)	ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:197)
S-22-1	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQADGHIT (SEQ ID NO:62)	GTFFSYAIS (SEQ ID NO:130)	GIVPRFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO:571)	ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:197)
S-22-2	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQADGHIT (SEQ ID NO:62)	GTFFSYAIS (SEQ ID NO:130)	GIIPGFGTAQYAKKFQG (SEQ ID NO:572)	ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:197)
S-22-3	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQADGHIT (SEQ ID NO:62)	GTFRSYAIS (SEQ ID NO:567)	GIIPGFGTAWYAKKFQG (SEQ ID NO:573)	ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:197)
S-22-4	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQADGHIT (SEQ ID NO:62)	GTFGSYAIS (SEQ ID NO:568)	GIIPAFGTAWYAKKFQG (SEQ ID NO:574)	ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:197)
S-22-5	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQADGHIT (SEQ ID NO:62)	GTFFSYAIS (SEQ ID NO:130)	GIIPSGGTASYAKKFQG (SEQ ID NO:575)	ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:197)
S-22-6	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQADGHIT (SEQ ID NO:62)	YTFTGYAMA (SEQ ID NO:569)	GIIPTFGTAWYAKKFQG (SEQ ID NO:576)	ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:197)
S-22-7	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQADGHIT (SEQ ID NO:62)	GTFFSYAIS (SEQ ID NO:130)	GIIPGFGGRANYAKKFQG (SEQ ID NO:577)	ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:197)
S-22-8	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQADGHIT (SEQ ID NO:62)	GTFGSYAIS (SEQ ID NO:568)	GIIPQFGTANYAKKFQG (SEQ ID NO:578)	ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:197)
S-22-9	RASQSISSWLA (SEQ ID NO:8)	KASSLES (SEQ ID NO:28)	QQADGHIT (SEQ ID NO:62)	GTFRNYAIS (SEQ ID NO:570)	GIIPIGGWANYAKKFQG (SEQ ID NO:579)	ARQGRKTGYYYYYGMDV (SEQ ID NO:197)

Таблица 14

Последовательности CDR вариантов антитела против сортилина S-60 по Kabat (Antibody - Антитело)

Antibody	CDR L1	CDR L2	CDR L3	CDR H1	CDR H2	CDR H3
S-60 варианты	RSSQX ₁ LLX ₂ SNG YNLD X ₁ - S или G X ₂ - H или R (SEQ ID NO:580)	LGSNRX ₁ S X ₁ - A или V (SEQ ID NO:581)	MQQQTPLT (SEQ ID NO:100)	YSISSX ₁ X ₂ YWG X ₁ - G или V X ₂ - Y или R (SEQ ID NO:582)	X ₁ IYX ₂ SGSTYYNPSLKS X ₁ - T, S или A X ₂ - H или P (SEQ ID NO:583)	ARQGSIRKQGYGMDV (SEQ ID NO:233)
S-60-1	RSSQSLLHSNGY NYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQQQTPLT (SEQ ID NO:100)	YSISSVRYWG (SEQ ID NO:587)	SIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:169)	ARQGSIRKQGYGMDV (SEQ ID NO:233)
S-60-2	RSSQSLLHSNGY NYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQQQTPLT (SEQ ID NO:100)	YSISSVRYWG (SEQ ID NO:587)	AIYPSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:588)	ARQGSIRKQGYGMDV (SEQ ID NO:233)
S-60-3	RSSQSLLRSNGY NYLD (SEQ ID NO:584)	LGSNRVS (SEQ ID NO:586)	MQQQTPLT (SEQ ID NO:100)	YSISSGYWYG (SEQ ID NO:142)	TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:170)	ARQGSIRKQGYGMDV (SEQ ID NO:233)
S-60-4	RSSQSLLRSNGY NYLD (SEQ ID NO:585)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQQQTPLT (SEQ ID NO:100)	YSISSGYWYG (SEQ ID NO:142)	TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:170)	ARQGSIRKQGYGMDV (SEQ ID NO:233)
S-60-5	RSSQSLLRSNGY NYLD (SEQ ID NO:584)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQQQTPLT (SEQ ID NO:100)	YSISSGYWYG (SEQ ID NO:142)	TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:170)	ARQGSIRKQGYGMDV (SEQ ID NO:233)
S-60-6	RSSQSLLRSNGY NYLD (SEQ ID NO:584)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQQQTPLT (SEQ ID NO:100)	YSISSGYWYG (SEQ ID NO:142)	TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:170)	ARQGSIRKQGYGMDV (SEQ ID NO:233)
S-60-7	RSSQSLLRSNGY NYLD (SEQ ID NO:584)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQQQTPLT (SEQ ID NO:100)	YSISSGYWYG (SEQ ID NO:142)	TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:170)	ARQGSIRKQGYGMDV (SEQ ID NO:233)
S-60-8	RSSQSLLRSNGY NYLD (SEQ ID NO:584)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQQQTPLT (SEQ ID NO:100)	YSISSGYWYG (SEQ ID NO:142)	TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:170)	ARQGSIRKQGYGMDV (SEQ ID NO:233)
S-60-9	RSSQSLLHSNGY NYLD (SEQ ID NO:10)	LGSNRAS (SEQ ID NO:30)	MQQQTPLT (SEQ ID NO:100)	YSISSGYWYG (SEQ ID NO:142)	TIYHSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:170)	ARQGSIRKQGYGMDV (SEQ ID NO:233)

Таблица 15

Последовательности CDR вариантов антитела против сортилина S-82 по Kabat (Antibody - Антитело)

Antibody	CDR L1	CDR L2	CDR L3	CDR H1	CDR H2	CDR H3
S-82 варианты	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSHVSPWT (SEQ ID NO:122)	X ₁ SI ₂ XX ₃ XYWG X ₁ - G или Y X ₂ - S, V, Y, K, или P X ₃ - S или R X ₄ - D или E (SEQ ID NO:589)	X ₁ IYX ₂ X ₃ GSTX ₄ YNPSLKS X ₁ - S, G, Q, или L X ₂ - Y, W, или R X ₃ - S, R, K, или A X ₄ - Y или V (SEQ ID NO:590)	ARGVSGSYGYRYF DY (SEQ ID NO:253)
S-82-1	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSHVSPWT (SEQ ID NO:122)	GSIVSSDYWG (SEQ ID NO:591)	GIYYRGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:597)	ARGVSGSYGYRYF DY (SEQ ID NO:253)
S-82-2	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSHVSPWT (SEQ ID NO:122)	GSISSDDYYWG (SEQ ID NO:147)	GIYYRGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:597)	ARGVSGSYGYRYF DY (SEQ ID NO:253)
S-82-3	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSHVSPWT (SEQ ID NO:122)	GSISSDDYYWG (SEQ ID NO:147)	QIYYKGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:598)	ARGVSGSYGYRYF DY (SEQ ID NO:253)
S-82-4	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSHVSPWT (SEQ ID NO:122)	GSIIYSSDYWG (SEQ ID NO:592)	SIYWRGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:599)	ARGVSGSYGYRYF DY (SEQ ID NO:253)
S-82-5	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSHVSPWT (SEQ ID NO:122)	GSIKSSEYYWG (SEQ ID NO:593)	SIYRAGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:600)	ARGVSGSYGYRYF DY (SEQ ID NO:253)
S-82-6	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSHVSPWT (SEQ ID NO:122)	YSIPS-DYYWG (SEQ ID NO:594)	SIYYRGSTVYNPSLKS (SEQ ID NO:601)	ARGVSGSYGYRYF DY (SEQ ID NO:253)
S-82-7	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSHVSPWT (SEQ ID NO:122)	GSISSEYYWG (SEQ ID NO:595)	LIYYRGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:602)	ARGVSGSYGYRYF DY (SEQ ID NO:253)
S-82-8	RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:14)	GASSRAT (SEQ ID NO:26)	QQSHVSPWT (SEQ ID NO:122)	GSISSREYYWG (SEQ ID NO:596)	SIYRSGSTYYNPSLKS (SEQ ID NO:603)	ARGVSGSYGYRYF DY (SEQ ID NO:253)

Определение параметров связывания аффинно зрелых антител против сортилина.

Аффинности связывания клеток для отобранных аффинно зрелых антител против сортилина показаны в табл. 16А и 16В. В таблице "N. B." обозначает отсутствие связывания, "P. F." обозначает плохое соответствие, "N. D." обозначает не выявлено, "Bt-" обозначает биотинилированное, "hSort" обозначает сортилин человека, "msSort" обозначает сортилин мыши, а "(M)" обозначает моновалентный.

Таблица 16А

Аффинности лучших клонов аффинно зрелых антител

Антитело	MSD Fab K _D Bt-hSort (M)	MSD Fab K _D Bt-msSort (M)	Fortebio Fab K _D Bt-hSort (M)	Fortebio Fab K _D Bt-msSort (M)
S-2-1	2. 90E-11	7. 30E-10	6. 14E-10	1. 92E-09
S-2-2	2. 70E-11	7. 90E-10	3. 08E-10	2. 68E-09
S-2-11	1. 10E-11	N. D.	2. 61E-10	7. 59E-09
S-15-3	2. 60E-10	1. 10E-10	9. 43E-10	7. 69E-10
S-15-6	2. 30E-10	7. 00E-11	9. 84E-10	6. 78E-10
S-15-6-12	2. 30E-11	N. D.	9. 57E-10	7. 65E-10
S-15-10-12	7. 60E-11	N. D.	1. 24E-09	1. 21E-09
S-15-10-13	3. 20E-11	N. D.	1. 18E-09	1. 11E-09
S-15-14	1. 90E-10	1. 00E-10	1. 04E-09	7. 58E-10
S-22-3	9. 70E-11	1. 20E-09	6. 98E-10	1. 43E-09
S-22-7	9. 80E-11	5. 70E-10	15. 08E-10	7. 51E-10
S 22 9	4. 80E 12	N. D.	5. 75E 10	3. 29E 09
S-60-4	9. 40E-11	N. D.	2. 49E-09	N. B.
S-60-5	6. 50E-11	N. D.	2. 00E-09	N. B.
S-60-6	9. 30E-11	N. D.	2. 28E-09	N. B.
S-82-3	5. 60E-10	N. B.	P. F.	N. B.
S-82-5	N. D.	N. B.	3. 96E-09	N. B.
S-82-8	N. D.	N. B.	P. F.	N. B.

Таблица 16В
Аффинности лучших клонов аффинно зрелых антител

Антитело	Связывание с HEK293T+ hSort (K _D в М)	Связывание с HEK293T+ msSort (K _D в М)
S-2-1	6. 91E-10	2. 65E-09
S-2-2	1. 21E-09	2. 27E-09
S-2-11	3. 77E-10	1. 54E-09
S-15-3	5. 25E-09	1. 79E-08
S-15-6	6. 74E-09	1. 89E-08
S-15-6-12	3. 84E-09	6. 62E-09
S-15-10-12	4. 3E-09	8. 89E-09
S-15-10-13	2. 88E-09	4. 07E-09
S-15-14	5. 25E-09	1. 94E-08
S-22-3	1. 08E-09	3. 63E-09
S-22-7	2. 05E-09	4. 78E-09
S-22-9	8. 10E-10	5. 12E-09
S-60-4	7. 3E-10	N. B.
S-60-5	5. 6E-10	N. B.
S-60-6	7. 8E-10	N. B.
S-82-3	5. 90E-10	N. B.
S-82-5	3. 74E-10	N. B.
S-82-8	3. 99E-10	N. B.

Далее аффинно зрелые антитела сравнивали друг с другом и их соответствующим исходным антителом на способность снижать уровни сортилина на клеточной поверхности в клетках U-251 человека и клетках N2A мыши. Антитела добавляли к клеткам в течение 72 часов в различных концентрациях и уровни сортилина измеряли методом FACS, используя конъюгированное с DyLight антитело бина, отличающегося от бина исследуемого антитела (либо S-29-DyLight650, либо S-30-DyLight650). Аффинно зрелые антитела в общем показали улучшенную способность снижать нативные уровни сортилина клеточной поверхности как в клетках человека, так и мыши (фиг. 13А-13G), особенно в наименьшей концентрации антитела (IgG) равной 1,25 нМ.

Исходное антитело S-15 и аффинно зрелые антитела, полученные из него, исследовали на способность блокировать связывание 15 нМ PGRN с экспрессирующимся на клетках HEK293T сортилином. Как показано на фиг. 14, клоны аффинно зрелого антитела S-15 (например, от S-15-1 до S-15-7 и от S-15-12 до S-15-14) индуцировали небольшие увеличения способности блокировать связывание 15 нМ PGRN с сортилином, по сравнению с исходным антителом S-15.

В итоге, авторы идентифицировали до трех аффинно зрелых клонов с улучшенным связыванием сортилина и человека и мыши, и с улучшенной функциональностью при понижении регулирования уровней белка сортилина и/или блокирование связывания PGRN.

Результаты указывают на идентификацию аффинно зрелых антител против сортилина, которые имеют улучшенное связывание как с сортилином человека, так и сортилином мыши, и которые имеют улучшенную функциональность по снижению нативных уровней сортилина на клеточной поверхности и/или блокированию связывания PGRN с сортилином, по сравнению с соответствующим исходным антителом.

Пример 24. Картирование эпителиев антител против сортилина.

Материалы и методы.

Связывание с линейными эпитопами.

Эпитопы антител картировали, как описано ниже. Для определения параметров антигена выполняли измерения с использованием Ultraflex III MALDI ToF (Bruker), оборудованного модулем изучения взаимодействий HM4. Этот модуль содержит специальную систему выявления, предназначенную для оптимизации выявления до 2 МДа с наномолярной чувствительностью.

Образцы антигена и антитела смешивали до конечной концентрации от 1 мкМ до 0,5 мкМ, соответственно. Смешивали 1 мкл полученной смеси с 1 мкл матрицы, состоящей из перекристаллизованной матрицы синапиновой кислоты (10 мг/мл) в ацетонитриле/воде (1:1, об/об), ТФУ 0,1% (набор K200 MALDI). После смешивания 1 мкл каждого образца помещали на планшет для MALDI (SCOUT 384). После перекристаллизации при комнатной температуре планшет вводили в масс-спектрометр MALDI и немедленно анализировали, анализ повторяли три раза.

Смесь, приготовленную для контрольного эксперимента, перекрестно сшивали с использованием набора для анализа MS K200 MALDI. Девять микролитров смеси смешивали с 1 мкл реагента-стабилизатора K200 (2 мг/мл) и инкубировали при комнатной температуре. После завершения времени

инкубации (180 минут) готовили образцы для анализа MALDI, как для контрольных экспериментов. Образцы анализировали методом высокомолекулярного MALDI немедленно после кристаллизации.

Для исследования того, находится ли эпитоп связывания в линейной форме, выполняли протеолиз рекомбинантного сортилинового антигена человека иммобилизованным пепсином. Пятьдесят микролитров антигена в концентрации 4 мкМ смешивали с иммобилизованным пепсином в концентрации 2,5 мкМ и инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут. После завершения времени инкубации образец центрифугировали, а супернатант пипетировали. Завершение протеолиза контролировали высокомолекулярной MALDI масс-спектрометрией в линейном режиме и рефлектронном режиме. Для получения больших количеств пептида в диапазоне 1000-3500 Да протеолиз пепсином оптимизировали. Пяти микролитров антигенных пептидов, полученных протеолизом, смешивали с 5 мкл антигена S-2-11, S-15-6, S-60, S-22-9 или S-82-8 в концентрации 2 мкМ и инкубировали при 37°C в течение 2 часов. После этого смесь смешивали с 5 мкл интактного антигена в концентрации 2 мкМ. Взаимодействие между антителом и антигеном выполняли, как описано выше.

Характерные линии масс пептида сортилинового антигена и определение параметров поверхностей связывания.

Для определения характерных линий пептида смешивали 10 мкл сортилина (5 мкМ) с 10 мкл антигена (2,5 мкМ). Добавляли 2 мкл DSS d0/d12 (2 мг/мл; DMF) с последующей инкубацией 3 часа при комнатной температуре. Реакцию останавливали добавлением 2 мкл бикарбоната аммония в концентрации 400 мМ (конечная=20 мМ) с последующей инкубацией 1 час при комнатной температуре. Раствор высушивали с использованием speedvac перед суспензированием с помощью 20 мкл H₂O 8 М мочевины. После смешивания к раствору добавляли 2 мкл DTT (500 мМ). Затем смесь инкубировали 1 час при 37°C. После инкубации добавляли 2 мкл йодацетамида (1 М) перед инкубацией 1 час при комнатной температуре в темном помещении. После инкубации добавляли 80 мкл протеолитического буфера. Впоследствии смешивали 100 мкл восстановленного/алкилированного антигена с ферментами расщепления от Roche Diagnostics (1,66 мкл трипсина или 0,83 мкл химотрипсина, или 0,83 мкл ASP-N, или 1,66 мкл эластазы, или 3,32 мкл термолизина) и инкубировали в течение ночи при 37°C (трипсин, ASP-N, эластаза), 25°C (химотрипсин) или 70°C (термолизин). После расщепления к раствору добавляли муравьиную кислоту до конечной концентрации 1%. Затем образцы подавали на промывку SPE на колонке Atlantis dC18 3 мкМ 2, 1×30 мм.

После протеолиза 10 мкл полученных пептидов наносили на наносистему для жидкостной хроматографии (Ultimate 3000, Dionex) и выполняли масс-спектрометрию с LTQ orbitrap.

Для определения эпитопа антител S-2-11, S-15-6, S-22-9, S-60 и S-82-8 на сортилиновом антигене с высоким разрешением, комплексы антитела/антигена инкубировали с дейтерированными кросс-линкерами и подвергали мультисубстратному расщеплению. После обогащения перекрестно сшитых пептидов анализировали образцы методом масс-спектрометрии с высоким разрешением (MS nLC-Orbitrap) и полученные данные анализировали с использованием программного обеспечения XQuest и Stavrox. Использовали nLC в комбинации с масс-спектрометрией Orbitrap. Пять микролитров образца антигена (концентрация 4 мкМ) смешивали с 5 мкл образца антитела (концентрация 2 мкМ) с целью получения смеси антитело/антиген с конечной концентрацией 2 мкМ/1 мкМ. Затем смесь инкубировали при 37°C 180 минут. На первом этапе 1 мг кросс-линкера d0 смешивали с 1 мг кросс-линкера d12. Смешивали 2 мг полученной смеси с 1 мл DMF с целью получения раствора 2 мг/мл DSS d0/d12. Десять микролитров раннее полученной смеси антитела/антигена смешивали с 1 мкл раствора кросс-линкеров d0/d12 (2 мг/мл). Раствор инкубировали 180 мин при комнатной температуре с целью завершения реакции перекрестного сшивания. Десять микролитров раствора с перекрестными сшивками смешивали с 40 мкл бикарбоната аммония (25 мМ, pH 8,3). После смешивания к раствору добавляли 2 мкл DTT (500 мМ). Смесь инкубировали 1 час при 55°C. После инкубации добавляли 2 мкл йодацетамида (1 М) и затем инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре в темном помещении. После инкубации раствор разбавляли 1/5 добавлением 120 мкл буферного раствора, используемого для протеолиза. Смешивали 145 мкл восстановленного/алкилированного антигена с каждым из 0,7 мкл трипсина, 0,35 мкл химотрипсина, 0,35 мкл ASP-N, 0,7 мкл эластазы, либо 1,4 мкл термолизина. Протеолитические смеси инкубировали в течение ночи при 37°C (трипсин, ASP-N, эластаза) или 25°C (химотрипсин), или 70°C (термолизин). Затем анализировали перекрестно сшитые пептиды, используя Xquest, версия 2.0, и программное обеспечение Stavrox 2.1.

Результаты.

Связывание с линейными эпитопами.

Каждое из аффинно зрелых антител против сортилина S-2-11, S-15-6 и S-60 связывается с сортилином в комплекс со стехиометрией 1:1. Связывание не ингибировалось присутствием пептидов (фиг. 15). Каждое из аффинно зрелых антител против сортилина S-22-9 и S-82-8 образует комплексы с сортилином в соотношении как 1:1, так и 1:2 (антитело: антиген). Эти комплексы не ингибировались присутствием какого-либо пептида. Фиг. 15 также показано, что сортилиновые пептиды не конкурировали за связывание с сортилином с антителом S-2-11. Авторы наблюдали сходное отсутствие конкуренции сортилиновых пептидов, также наблюдаемой для антител S-15-6, S-22-9, S-82-8 и S-60. Результаты показывают, что

эпитопы связывания для антител S-2-11, S-15-6, S-22-9, S-82-8 и S-60 являются конформационными и/или прерывными. Этот факт согласуется с неспособностью картировать антитела S-2-11, S-15-6, S-22-9, S-82-8 и S-60 на сортилине, используя подход с пептидными библиотеками.

Характерные линии масс пептида сортилинового антигена и определение параметров поверхностей связывания.

После протеолиза трипсином идентифицировали 52 пептида в последовательности сортилина, охватывающих 57, 72% последовательности. После протеолиза химотрипсином идентифицировали 73 пептида в последовательности сортилина, охватывающих 81, 12% последовательности. После протеолиза ASP-N идентифицировали 12 пептидов в последовательности сортилина, охватывающих 24, 22% последовательности. Ни одного пептида не идентифицировали в последовательности сортилина после протеолиза эластазой. После протеолиза термолизином идентифицировали 2 пептида в последовательности сортилина, охватывающих 1, 47% последовательности. Объединение пептидов из всех результатов протеолиза охватывало 94, 78% последовательности сортилина (фиг. 16A). Пептидами, полученными путем протеолиза, охватывалось 94, 78% внеклеточного домена сортилина, считается, что при использовании данного способа не был пропущен ни один эпитоп.

В табл. 17 обобщены результаты экспериментов по перекрестному сшиванию для определения эпитопов. Расщепление термолизином не привело к получению какого-либо выявляемого пептида для какого-либо из антител. Для антител S-2-11, S-15-6 и S-22-9, были идентифицированы два различных эпитопа. Для антител S-60 и S-82-8 идентифицирован единственный эпитоп. В табл. 17 перекрестно сшитые аминокислоты отмечены жирным шрифтом.

Таблица 17A
Количество пептидов

Антитело	Количество пептидов после трипсина	Количество пептидов после химотрипсина	Количество пептидов после ASP-N
S-2-11	7	5	0
S-15-6	8	4	0
S-22-9	2	8	3
S-60	0	2	4
S-82-8	1	2	0

Таблица 17B
Участки связывания антител к сортилину

Антитело	Участок связывания сортилина	Аминокислотный участок из SEQ ID NO: 1
S-2-11	²³⁷ NGLWVSK N FGGKWEEIHKAVCLAK ²⁶⁰ (SEQ ID NO: 703) и ²⁹⁷ KTIGVKIY S FGLGGR R FLFASV ³¹⁷ (SEQ ID NO: 699)	237-260 и 297-317
S-15-6	²³⁷ NGLWVSK N FGG ²⁴⁷ (SEQ ID NO: 700) и ³¹⁴ FASVMADKDT T RRIHVSTDQGD T WS ³³⁸ (SEQ ID NO: 701)	237-247 и 314-338
S-22-9	²⁰⁷ FVQ T DLFPFHPL T QMMY S PQNS ²²⁷ (SEQ ID NO: 702) и ²³⁷ NGLWVSK N FGGKWEEIHKAVCLAK ²⁶⁰ (SEQ ID NO: 703)	207-227 и 237-260
S-60	²⁰⁷ FVQ T DLFPFHPL T QMMY S PQNSDYLL ²³¹ (SEQ ID NO: 704)	207-231
S-82-8	³⁶⁷ EPGDTGFGTIFT S DDR G IVY S KS L D ³⁹¹ (SEQ ID NO: 705)	367-391

Как указано в табл. 17, пептиды, распознаваемые антителом S-2-11, соответствуют аминокислотным остаткам 237-260 и 297-317 из SEQ ID NO: 1 и имеют аминокислотные последовательности: NGLWVSKNFGGKWEEIHKAVCLAK (SEQ ID NO: 703) и KTIGVKIYSFGLGGRFLFA SV (SEQ ID NO: 699). Дополнительно, перекрестно сшитые остатки внутри пептидов соответствуют остаткам K₂₄₃ и K₂₄₈ внутри аминокислотных остатков 237-260 из SEQ ID NO: 1; а остатки S₃₀₅, R₃₁₁ и S₃₁₆ внутри аминокислотных остатков 297-317 из SEQ ID NO: 1. Пептиды, распознаваемые антителом S-15-6, соответствуют аминокислотным остаткам 237-247 и 314-338 из SEQ ID NO: 1 и имеют аминокислотные последовательности: NGLWVSKNFGG (SEQ ID NO: 700) и FASVMADKDTTRRIHVSTDQGD**T**WS (SEQ ID NO: 701). Дополнительно, перекрестно сшитые остатки внутри пептидов соответствуют остаткам S₂₄₂ и K₂₄₃ внутри

аминокислотных остатков 237-247 из SEQ ID NO: 1; а остатки S₃₁₆ и R₃₂₅ внутри аминокислотных остатков 314-338 из SEQ ID NO: 1. Пептиды, распознаваемые антителом S-22-9, соответствуют аминокислотным остаткам 207-227 и 237-260 из SEQ ID NO: 1 и имеют аминокислотные последовательности: FVQTDLPFHPLTQMMYSPQNS (SEQ ID NO: 702) и NGLWVSKNFSGKWEIHKAVCLAK (SEQ ID NO: 703). Дополнительно, перекрестно сшитые остатки внутри пептидов соответствуют остаткам T₂₁₀, T₂₁₈ и S₂₂₃ внутри аминокислотных остатков 207-227 из SEQ ID NO: 1; а остатки K₂₄₃, K₂₄₈ и K₂₅₄ внутри аминокислотных остатков 237-260 из SEQ ID NO: 1. Пептид, распознаваемый антителом S-60, соответствует аминокислотным остаткам 207-231 из SEQ ID NO: 1 и имеет аминокислотную последовательность из: FVQTDLPFHPLTQMMYSPQNSDYLL (SEQ ID NO: 704). Дополнительно, перекрестно сшитые остатки внутри пептида соответствуют остаткам T₂₁₈, Y₂₂₂, S₂₂₃ и S₂₂₇ внутри аминокислотных остатков 207-231 из SEQ ID NO: 1. Пептид, распознаваемый антителом S-82-8, соответствует аминокислотным остаткам 367-391 из SEQ ID NO: 1 и имеет аминокислотную последовательность из: EPGDTGFGTIFTSDDR-GIVYSKSLD (SEQ ID NO: 705). Дополнительно, перекрестно сшитые остатки внутри пептидов соответствуют остаткам S₃₇₉, R₃₈₂ и Y₃₈₆ внутри аминокислотных остатков 367-391 из SEQ ID NO: 1.

Функциональное картирование.

Сортилиновые мутантные варианты HVPLVIMT131QVPLVIVS (SEQ ID NO: 706) (в которых подчеркнутые остатки H, M и T из аминокислотной последовательности сортилина дикого типа были заменены на Q, V и S, соответственно), а S595R получали с использованием мутантных праймеров и клонировали в плазмидном векторе pCMV-AC-IRES-GFP (от Origene). Антитела против сортилина S-30 и S-60 конъюгировали с помощью набора для маркирования антител DyLight 650 (Thermo Scientific Pierce) в соответствии с инструкциями производителя.

Клетки HEK293T транзигентно трансфицированные плазмидами с использованием плазмиды с использованием Eugene HD (Promega) в соответствии с инструкциями производителя. Трансфицированные клетки HEK293T собирали после 24 часов, промывали ФСБ и инкубировали с 5 мкг/мл антитела в течение одного часа на льду в буферы для FACS (ФСБ+2% FBS). Впоследствии клетки промывали дважды 200 мкл буфера для FACS и анализировали на FACS Canto и программном обеспечении FlowJo. Отбирали GFP-позитивные клетки и измеряли экспрессию сортилина как медианную интенсивность флуоресценции на канале APC.

Сортилиновый мутант HVPLVIMT131QVPLVIVS сильно снижал связывание антитела S-30 (фиг. 16B), в то же время как не снижал связывание антитела S-60. Напротив, сильно снижалось связывание антитела S-60 с сортилиновым мутантом S595R (фиг. 16C), в то же время как не снижал связывание антитела S-30. Эти результаты показывают, что аминокислоты в пределах ¹³¹HVPLVIMT¹³⁸ пептида сортилина необходимы для связывания S-30, а остаток S595 является критическим для связывания S-60 с сортилином.

Пример 25. Определение параметров взаимодействия между сортилином и нейротензином.

Материалы и методы.

Данные поверхностного плазмонного резонанса (ППР) собирали при скорости сканирования 1 Гц при 25°C на приборе BiaCore T200. Анализ данных проводили с использованием программного обеспечения BiaCore T200, версия 2.0. Использовали HBS-EP+ (100 mM HEPES, 1, 5 M NaCl, 30 mM ЭДТК, 0,5% об/об поверхностно-активного вещества P20, pH 7,4) в качестве подвижного буфера и для подготовки реактивов.

Меченый гистидином сортилин человека (25 нМ; R&D Systems) захватывали (время контактирования 60 с, скорость потока 30 мкл/мин, время диссоциации 0 с) на сенсорном чипе CM5 (GE Healthcare), иммобилизованном с антигистидиновым IgG. Програнулин человека (PGRN; 50 нМ; AdipoGen), содержащий 0 нМ, 100 нМ или 500 нМ нейротензина (NTS; Sigma), затем пропускали через поверхность с захваченным сортилином (время контактирования 60 с, скорость потока 30 мкл/мин, время диссоциации 30 с). Поверхность чипа регенерировали между циклами с использованием 10 mM глицин-HCl, pH 1,7 (время контактирования 60 с, скорость потока 30 мкл/мин, время стабилизации 60 с). Получали результирующий сигнал ППР как разность в ответе от измерений, выполненных на пустой проточной ячейке.

Антитела против сортилина S-15 (25 нМ), S-22 (25 нМ), S-49 (25 нМ) и S-60 (25 нМ) захватывали (время контактирования 60 с, скорость потока 30 мкл/мин, время диссоциации 0 с) на сенсорном чипе CM5 (GE Healthcare), иммобилизованном с античеловеческим IgG (Jackson Labs). Сортилин человека (100 нМ; R&D Biosystems), предварительно инкубировали с 0 нМ, 100 нМ, 500 нМ или 10000 нМ нейротензина (NTS; Sigma) и затем пропускали через поверхность с захваченным антителом к сортилину (время контактирования 60 с, скорость потока 30 мкл/мин, время диссоциации 30 с). Поверхность чипа регенерировали между циклами с использованием 10 mM глицин-HCl, pH 1,7 (время контактирования 60 с, скорость потока 30 мкл/мин, время стабилизации 60 с). Получали результирующий сигнал ППР как разность в ответе от измерений, выполненных на пустой проточной ячейке.

Результаты.

Как показано на фиг. 17A, совместное введение нейротензина блокировало связывание рекомбинантного програнулина человека (PGRN) с сортилином человека, подтверждая, что PGRN и нейротензин связывается с тем же сайтом на сортилине. Для исследования того, связывается ли антитела против сор-

тилина (S-15, S-22, S-49 и S-60) с тем же сайтом на сортилине, что и нейротензин, захватывали антитела на чипе и затем совместно вводили различные дозы нейротензина с предварительно инкубированным сортилином. Наблюдали только минимальное снижение связывания с сортилиновым антигеном антител S-15, S-22 и S-49 (фиг. 17B, 17C и 17D). Тем не менее не наблюдали снижение связывания S-60 с сортилином (фиг. 17E). Как показано в примере 4, антитело S-60 представляет собой PGRN-блокирующее антитело, которое блокирует связывание PGRN с сортилином. Результат указывает, что антитела S-15, S-22, S-49 и S-60 не связывают сортилин в сайте связывания нейротензина. Так как нейротензин может блокировать связывание PGRN с сортилином, но не антитело S-60, то считается, что способность антитела S-60 блокировать связывание PGRN с сортилином достигается путем связывания S-60 возле сайта связывания PGRN на сортилине, и вероятно скорее закрывает сайт связывания PGRN путем стерического блокирования, чем прямой конкуренцией с сайтом связывания PGRN на сортилине. Кроме того, антитела S-15, S-22, S-49 и S-60, представленные бинами 2, 3, 4 и 5 (n. d.), предположительно соответствующие перечисленным в примерах 1 и 23 антителам против сортилина, принадлежащим бинам 2, 3 и 4, также не связывают сортилин в сайте связывания нейротензина.

Пример 26. Снижение уровней сортилина в клетках.

Материалы и методы.

Первичные моноциты человека выделяли из гепаринизированной крови человека (Центры получения крови на тихоокеанском побережье) с использованием смеси для обогащения моноцитов человека RosetteSep (STEMCELL Technologies), в соответствии с протоколом производителя. Моноциты высаживали на RPMI (Invitrogen), содержащую 10% фетальной сыворотки теленка (Hyclone) и либо 50 мкг/мл М-КСФ (Peprotech) для индукции дифференцировки в макрофаги, либо 100 мкг/мл IL-4+100 мкг/мл ГМ-КСФ (Peprotech) для индукции дифференцировки в дендритные клетки. Через 5 дней клетки собирали. Для макрофагов собирали только клетки, прикрепленные к планшету с использованием скребка для клеток. Для дендритных клеток собирали клетки в суспензию. После промывки в ФСБ, клетки высевали по 0,4 Мл/лунку в 12-луночные планшеты.

К каждой лунке добавляли пятьдесят наномолей полноразмерного антитела (IgG) против сортилина или Fab антитела против сортилина и инкубировали в течение 48 ч. Затем клетки лизировали на льду с использованием буфера RIPA (Thermo Fisher Scientific) с ингибиторами протеаз (Life Technologies). Собирали лизаты и центрифугировали при 10000×g в течение 10 мин при 4°C. Собирали супернатанты и измеряли концентрацию белка с использованием набора BCA в соответствии с инструкциями производителя (Thermo Fisher Pierce). Использовали следующие антитела против сортилина: S-2-11, S-5, S-15-6, S-22-9, S-60 и S-82-8.

Наносили пятьдесят микрограмм белка на дорожку в геле для белков 4-12% Bolt Bis-Tris (Life Technologies) и анализировали в течение 45 мин при 150 В. Переносили белок на мембрану PVDF с использованием iBlot в соответствии с инструкциями производителя (Life Technologies). Затем мембрану промывали в TBST+0,05% тритона (TBST) и блокировали в течение по меньшей мере одного часа при КТ в TBST+5% БСА. Сортилин метили с использованием антитела к нейротензину (BD Biosciences, 1:200), а актин с использованием антитела к бета-актину (Santa Cruz, 1: 500), разбавленными в TBST, с инкубацией в течение ночи при 4°C. Затем мембраны промывали три раза TBST и инкубировали в течение одного часа при КТ со вторичным антимышиним антителом, конъюгированным с HRP (Jackson Laboratories). Мембраны снова промывали три раза в TBST и инкубировали в течение 1 мин в реагенте для выявления ECL Western (GE Life Sciences) и проводили визуализацию на устройстве Amersham Imager 600 (GE Life Sciences).

Результаты.

По сравнению с контролями (контроль, контрольный IgG1 человека и Fab IgG1 человека) обработка 50 нМ полноразмерных антител или фрагментов Fab против S-2-11, S-15-6, S-22-9 и S-82-8 приводит к сильному снижению экспрессии белка сортилина в первичных макрофагах человека (фиг. 18A) и первичных дендритных клетках человека (фиг. 18B) в пределах 48 ч. Антитело против сортилина S-60 индуцировало только слабое снижение экспрессии белка сортилина в первичных моноцитах человека, несмотря на его способность почти полностью убирать уровни сортилина на клеточной поверхности (фиг. 18A и 18B). Антитело против сортилина S-5 не индуцировало снижение экспрессии белка сортилина в первичных моноцитах человека (фиг. 18A и 18B). Результаты с антителом S-5 согласуются с неспособностью антитела S-5 снижать уровни сортилина на клеточной поверхности в клетках U-251 (пример 5 и фиг. 10). Эти результаты показывают, что антитело против сортилина S-5 представляет собой чистый блокатор связывания PGRN.

Для получения результатов, изображенных на фиг. 18, показывают, что первичные миелоидные клетки, полученные из образцов крови пациентов, можно использовать для измерения активности *in vivo* антител против сортилина, которые снижают уровни белка сортилина. Были также продемонстрированы сходные результаты *in vivo* с мышами.

Пример 27. Определение параметров взаимодействия между сортилином и програнулином *in vivo*.

Материалы и методы.

Рекомбинантные антитела против сортилина клонировали в экспрессионных плаزمиды и продуци-

ровали в клетках HEK293T стандартными процедурами, как описано в William J. Harris & John R. Adair, Eds. (Antibody Therapeutics, 1997). Экспрессионные плазмиды, в которых клонировали антитела, содержали консенсусную последовательность константных участков тяжелой и легкой цепи IgG1 человека или мыши, включая мутацию N297A в Fc тяжелой цепи, которая предотвращает гликозилирование антитела.

Мышам C57BL6 (Taconic), мышам с нокаутом по сортилину или гетерозиготным по сортилину мышам внутрибрюшинно вводили 40 мг/кг IgG на день 0. Использовали следующие антитела против сортилина: S-2-11, S-15-6, S-20 и S-30.

Для выделения плазмы и лейкоцитов собирали кровь через 4 ч на дни 2, 5, 8 и 12. Для выделения плазмы собирали кровь в гепаринизированные пробирки и центрифугировали при 10000×g в течение 10 мин при 4°C. Собирали супернатант плазмы для хранения при -80°C. Для последующего выделения лейкоцитов добавляли 1× объем ФСБ+1 мМ ЭДТК и клетки ресуспендировали на вихревой мешалке. Добавляли 10× объем 1× лизирующего буфера ACK (Lonza) и клетки инкубировали на льду в течение 10 мин и впоследствии центрифугировали при 500×g в течение 10 мин при 4°C. Удаляли супернатант и клетки ресуспендировали в 10× объеме лизирующего буфера ACK (Lonza) и снова инкубировали на льду в течение 5 мин и впоследствии центрифугировали при 500×g в течение 10 мин при 4°C. Клетки промывали в 1 мл ФСБ+1 мМ ЭДТК, снова центрифугировали и отбрасывали супернатант, а осадок клеток хранили при -80°C.

Для выделения белка из лейкоцитов осадки клеток ресуспендировали в 50 мкл N-Per (Thermo Scientific Pierce), содержащем смесь ингибиторов протеаз. Раствор инкубировали на льду в течение 20 мин и центрифугировали при 10000×g в течение 10 мин при 4°C. Собирали супернатант, проводили измерение методом BCA и наносили на гель для белка, как описано в предыдущем разделе. Уровни антител IgG1 человека в плазме определяли с использованием разработанного анализа ELISA. Вкратце, 96-луночные планшеты покрывали в течение ночи при 4°C 0,1 мкг/лунку антитела козла к фрагменту Fab человека, специфического к IgG (Jackson Immuno). Планшеты промывали три раза в 200 мкл промывочного буфера (ФСБ+0,05% Tween) и блокировали в буфере для связывания (ФСБ+1% BCA) в течение 1 ч при КТ. Разбавляли плазму в буфере для связывания и добавляли к блокированным планшетам и инкубировали в течение 1 ч при 37°C. Впоследствии планшеты промывали три раза в 200 мкл промывочного буфера и инкубировали со специфическим к Fc вторичным античеловеческим антителом, конъюгированным с HRP (Jackson Immuno Research), разбавленным 1:10000 в буфере для связывания в течение 1 ч при КТ. Промывали планшеты три раза в промывочном буфере, а затем добавляли 100 мкл субстрата TMB и инкубировали до достаточного развития окрашивания. Реакцию останавливали добавлением 50 мкл 2 N серной кислоты и планшет считывали на считывающем устройстве для планшетов Synergy H1 (Biotek). Применяли контрольное антитело IgG1 как стандарт в концентрации 16-1000 пМ. Уровни антител IgG1 мыши исследовали с использованием сходных параметров ELISA. Планшеты покрывали 0,1 мкг/лунку рекомбинантным белком сортилином мыши (R&D Systems) и использовали специфический к Fc анти-мышинный IgG козла (Jackson Immuno Research) в качестве антитела для выявления при разведении 1:10000 в буфере для связывания (ФСБ+3% BCA). Введенное антитело применяли как стандарт в концентрации 37-3000 пМ.

Уровни програнулина (PGRN) мыши измеряли с использованием набора DuoSet ELISA от R&D Systems в соответствии с протоколом производителя. Уровни белка сортилина измеряли в лизатах лейкоцитов с использованием вестерн-блоттинга и проводили их количественное определение, как описано в примере 25.

Для ICV-вливания в головной мозг мыши имплантировали подкожно мышам осмотические мини-насосы Alzet (модель 1002, скорость потока=0,25 мкл/ч), которые покрывали и предварительно заполняли антителом (2 мг/мл) и присоединяли к канюле Alzet (набор 3 для вливания в головной мозг) для одностороннего ICV-введения. Перед хирургической операцией мини-насосы заправляли, следуя предоставленным Alzet указаниям. Вкратце, все пакеты, бутылки, шприцы и перчатки опрыскивали 70% этанолом. Мини-насос заполняли требуемым исследуемым образцом, используя чистую иглу и шприц. Затем его очищали пропитанной изопропанолом тканью и помещали в контейнер со стерильным 0,9% физиологическим раствором на ночь при 37°C для заправки насосов.

Мышей подвергали эвтаназии с использованием изофлурана+кислород с использованием испарителя, оборудованного маской. После этого каждую мышь помещали в стереотаксическую рамку на площадку с регулируемым подогревом. Во время нахождения на стереотаксической рамке мыши продолжали получать анестезию изофлураном через носовой конус. Затем мыши получали местное применение маркаина (бупивакаин+эпинефрин) в месте надреза на черепе. Кожу, покрывающую череп, очищали хирургической марлей и бетадиновым скрабом, а затем протирали 75% этанолом на хирургической марле. Использовали скальпель для нанесения по средней сагитальной линии надреза, длиной 1 см, покрывающей череп кожи, открывающего кость. Для очистки от крови в хирургическом поле использовали стерильные ватные палочки с 0, 9% физиологическим раствором или 3% H₂O₂. Использовали кровоостанавливающий зажим для захвата лоскутов и для бокового оттягивания кожи. Сразу после соскребания скальпелем соединительнотканной оболочки и надкостницы представилась возможность визуализиро-

вать брегму. Сначала мининасос имплантировали подкожно вдоль лопатки/спины, либо слева, либо справа от позвоночника. Далее расположение отмечали окончатый дефект концом скальпеля или острым концом маркера и сверлили отверстие в черепе ручной дрелью, соблюдая осторожность, чтобы не повредить нижележащую твердую оболочку или ткань головного мозга. В боковой вентральный отдел или гиппокамп вставляли канюлю Alzet (набор 3), присоединенную к мининасосу. Координаты концов канюлю для бокового вентрально отдела следующие: передний-задний (AP)=-0,3 мм до брегмы, срединно-боковой (ML)=-1,0 мм от средней линии и вентральный (V)=-1,7 мм до твердой оболочки, установка зубца на 0 мм. После хирургической операции мышей поселяли отдельно в клетки и обеспечивали пищей и водой *ad libitum*. После хирургической операции состояние мышей отслеживали ежедневно. В момент времени завершения всех мышей подвергали эвтаназии. После эвтаназии или спонтанной смерти открывали место имплантации мининасоса и записывали наблюдения, включая любые признаки некроза или накопления жидкости.

Для перитонеальных инъекций мышам антитела в стерильном ФСБ вводили либо внутривенно (IP) либо внутривенно (IV) в соответствии со стандартными процедурами. Отбирали образцы крови по 50-200 мкл и собирали их в гепаринизированные пробирки. Впоследствии центрифугировали образцы крови в течение 10 мин при 2000×g при 4°C и собирали плазму.

Головной мозг рассекали на левый и правый гиппокамп, лобную кору и затылочную кору. Для получения лизатов головного мозга добавляли 20 мкл N-Per/мг ткани вместе с ингибиторами протеаз и фосфатаз. Ткани и клетки разрушали приборами для ультразвуковой обработки. После разрушения инкубировали смесь ткани и N-per на льду в течение 30 мин и впоследствии центрифугировали при 20000×g в течении 30 мин. Супернатант собирали и до анализа хранили при -80°C. Уровни антител против сортилина и PGRN мыши в образцах лизатов головного мозга измеряли с использованием анализов ELISA.

Результаты.

Антитела против сортилина S-2-11, S-15-6, S-20 и S-30 инъектировали мышам внутривенно в дозе 40 мг/кг на день 0. Уровни антител измеряли в дни 0 (4 ч после инъекции), 2, 5, 8 и 12 с использованием разработанных анализов ELISA. Измеряли периоды полувыведения из сыворотки с использованием разработанной дополнительной программы Excel. Как показано на фиг. 19A, антитело S-20, как huIgG1 N297A, имеет период полувыведения равный 0,9 суток, тогда как изотипное контрольное антитело (huIgG1N297A) имеет период полувыведения равный 4,2 суток. В этих экспериментах применяли мышные или человеческие антитела IgG1 N297A, которые имели мутацию N297A в своем Fc-участке, которая предотвращает гликозилирование и таким образом связывание с рецептором Fc.

Как показано на фиг. 19B, варианты мышиног IgG1 N297A в виде антител против сортилина S-2-11, S-15-6, S-20 и S-30 имели периоды полувыведения в диапазоне от 0,5 суток до 2,0 суток.

Антитела против сортилина имели более короткий период полувыведения, чем контрольный IgG, который предположительно является результатом захвата мишени. Как показано на фиг. 19, антитела S-15-6 и S-20 имеют самые длительные периоды полувыведения из антител против сортилина.

Затем антитела против сортилина исследовали для определения их возможности индуцирования изменений уровней белка PGRN в плазме крови мышей, используя набор для PGRN DuoSet ELISA (R&D Systems). Антитела против сортилина S-2-11, S-15-6 и S-20, которые индуцируют снижение уровней сортилина в клетках (фиг. 10 и 18), также были способны индуцировать приблизительно 4-кратное увеличение уровней белка PGRN в плазме крови мышей (фиг. от 20A до 20D). Когда увеличение уровней белка PGRN, индуцируемый антителом S-2-11, оказывается кратковременным, антитела S-20 и S-15-6 индуцируют значимое увеличение уровней белка PGRN вплоть до 8 суток (фиг. от 20A до 20D). Чистое блокирующее связывание PGRN антителом S-30, также способно значительно увеличивать уровни PGRN через 4 часа (фиг. 20A и 20B). Результаты дают возможность предположить, что блокирующие PGRN антитела против сортилина, которые не индуцируют снижение клеточных уровней сортилина, также увеличивают уровни белка PGRN. Тем не менее, антитела против сортилина, которые индуцируют снижение клеточных уровней сортилина, такие как антитела S-15-6 и S-20, и которые также способны индуцировать пролонгированное влияние на уровни белка сортилина, по сравнению с антителами против сортилина, которые только блокируют взаимодействие между сортилином и PGRN, считаются более подходящими для исследований эффективности *in vivo*.

Для подтверждения, того что увеличение уровней белка PGRN, индуцированного антителами против сортилина S-2-11, S-15-6 и S-20, происходило благодаря индукции снижения клеточных уровней сортилина, лизаты из образцов лейкоцитов, полученных из леченных мышей, анализировали на геле для белков и исследовали вестерн-блоттингом. Через пять дней после инъекции антитела S-2-11, S-15-6 и S-20 индуцировали сильное снижение уровней белка сортилина в лейкоцитах (фиг. 21A и 21B). Образцы лейкоцитов, взятых у мышей через двенадцать дней после лечения антителами S-2-11, S-20 и S-30, показали уровни белка сортилина, который вернулся к контрольным уровням (фиг. 21C и 21D). Однако образцы лейкоцитов, взятых у мышей через двенадцать дней после лечения антителом S-15-6 все еще показывали пониженные уровни белка сортилина (фиг. 21C и 21D). Оказалось, что антитело S-30 не индуци-

рует снижения уровней белка сортилина (фиг. 21A-21D), что согласуется с результатами *in vitro* (табл. 10). Антитело против сортилина S-30 представляет собой специфический блокатор PGRN.

Для измерения захвата мишени после длительных инъекций, мышам инъецировали раз в неделю в течение шести недель 20, 40 или 80 мг/кг антитела S-15-6 или контрольного антитела mIgG1. Через 35 дней выделяли лейкоциты из образцов цельной крови. Сильное снижение уровней белка сортилина наблюдали в образцах, полученных от мышей, при всех инъецированных дозах (фиг. 21E и 21F). Эти результаты показывают, что может быть достигнут длительный захват мишени.

Для измерения захвата мишени антителами к сортилину в головном мозге, варианты N297A IgG1 человека антител против сортилина S-15, S-20, S-30, а также изотипных контрольных антител человека, вливали в правый боковой вентральный отдел головного мозга мышей, используя осмотический мининасос Alzet. Через две недели после вливания головной мозг рассекали на левосторонний и правосторонний гиппокамп, лобную кору и затылочную кору. Из этих областей получали лизаты и измеряли уровни IgG человека с использованием анализов ELISA. Как показано на фиг. от 22A до 22C, когда уровни антител (IgG) откладывали на графике относительно уровней белка PGRN, обнаружили сильную положительную корреляцию между этими двумя переменными, указывающую, что увеличенные дозы антитела против сортилина могут увеличивать уровни белка PGRN в головном мозге. Таких корреляций не наблюдали между уровнями контрольного IgG и уровнями белка PGRN (фиг. 22D).

Для определения того, индуцируется ли влияние антител против сортилина на уровни белка PGRN благодаря снижению уровней сортилина и нет ли каких-либо нецелевых влияний, исследовали вариант N297A IgG1 антитела S-15-6 (huIgG) на мышах с нокаутом (KO) по сортилину и одноплетных гетерозиготных (Het) по сортилину мышах и одноплетных мышах дикого типа (WT). В плазме измеряли уровни антитела S-15-6 и наблюдали, что период полувыведения антитела значительно увеличивался, когда уменьшались уровни экспрессированного сортилина (фиг. 23A). Результаты показывают, что антитело S-15-6 специфически распознает сортилин и вероятно рециклируется и деградирует при рецепторном захвате (т.е. при связывании с сортилином).

Определяли также уровни PGRN у мышей с нокаутом по сортилину. У мышей с нокаутом (KO) по сортилину базовые уровни белка PGRN были в 4-раза выше, по сравнению с одноплетными мышами дикого типа (WT) (фиг. 23B). В дополнение к этому, 40 мг/кг антитела S-15-6 инъецировали в виде однократной дозы мышам с нокаутом по сортилину, а также одноплетным гетерозиготным (Het) мышам и одноплетным мышам дикого типа (WT), и измеряли уровни белка PGRN с использованием анализов ELISA. Результаты на фиг. 23C показывают, что при инъекции антитела S-15-6 у мышей дикого типа и гетерозиготных по сортилину мышам сильно увеличились уровни белка PGRN, но не наблюдали дополнительного увеличения уровней белка PGRN у мышей с нокаутом сортилина, указывая, что антитело S-15-6 увеличивает уровни белка PGRN исключительно путем снижения уровней белка сортилина.

Пример 28. Антитела против сортилина облегчают симптомы индуцированного коллагеном артрита у мышей.

Материалы и методы.

На дни 0 и 21 исследования мышей подвергали эвтаназии изофлураном и давали им внутривенные инъекции в целом из 100 мкл коллагена II типа в полном адьюванте Фрейнда в основание хвоста. Коллаген готовили, делая раствор 4 мг/мл в 0,01 N уксусной кислоты. Путем смешивания вручную эмульгировали равные объемы коллагена и 5 мг/мл адьюванта Фрейнда. На день 0 исследования, мышам рандомизировали в группы лечения, на основе массы тела. После комплектования начинали лечение. Коллаген инъецировали на день 0 и 21. На дни 0, 3, 7, 10, 14, 17, 21, 24 и 28 исследования внутривенно инъецировали 40 мг/кг антитела S-15-6 в виде IgG1 N297A мыши или контрольного антитела MOPC-21. Ежедневно вводили дозы дексаметазона.

После комплектования фиксировали массу тела и клиническую оценку в баллах для всех четырех лап мышей. Затем измеряли показатели для лап ежедневно со дня исследования 18 по 35. Общую эффективность исследуемых препаратов оценивали на основе ежедневных показателей для лап и расчета площади под кривой (AUC) показателей для лап с течением времени.

Клинические показатели для лап определяли следующим образом.

0=Нормальное состояние.

1=Поражен 1 сустав задней или передней лапы, или наблюдается минимальная диффузная эритема и расширение.

2=Поражены 2 сустава задней или передней лапы, или наблюдается слабая диффузная эритема и расширение.

3=Поражены 3 сустава задней или передней лапы, или наблюдается умеренная диффузная эритема и расширение.

4=Заметная диффузная эритема и расширение или поражены 4 пальцевых сустава.

5=Сильная диффузная эритема и сильное расширение целой лапы, неспособность сгибать пальцы.

Результаты.

Введение животным доз из 40 мг/кг антитела против сортилина S-15-6 привело к ограниченному, но статистически значимому снижению клинических показателей для лап, а также задержке на один день

проявления заболевания (фиг. 24). В табл. 18А и 18В показаны р-значения, рассчитанные с использованием t-теста и двухфакторного анализа ANOVA, подтверждающие статистическую значимость результатов, изображенных на фиг. 24.

Таблица 18А

Т-тест

Дни	S15-6 (40) по сравн. с ФСБ	S15-6 (40) по сравн. с МОРС-21	МОРС-21
25	0, 299	0, 299	0, 797
26	0, 083	0, 048	0, 905
27	0, 046	0, 002	0, 417
28	0, 031	0, 000	0, 263
29	0, 055	0, 001	0, 252
30	0, 031	0, 002	0, 368
31	0, 048	0, 002	0, 188
32	0, 040	0, 003	0, 279
33	0, 046	0, 005	0, 335
34	0, 037	0, 007	0, 474
35	0, 037	0, 007	0, 474

Таблица 18В

Двухфакторный анализ ANOVA

Отдельное сравнение	р-значение
ФСБ по сравн. с наивным	< 0, 0001
ФСБ по сравн. с МОРС-21	0, 8379
ФСБ по сравн. с СДЕХ	< 0, 0001
ФСБ по сравн. с S15-6 (40 мг/кг)	0, 0003

Эти результаты указывают, что индуцированное антителами против сортилина увеличение уровней програнулина может снижать клинические уровни артрита.

Пример 29. Определение параметров активности сортилина *in vivo*.

Материалы и методы.

Внутрибрюшинно инъецировали липополисахарид (LPS) из *E. coli* 0111: B4 в дозах 0 мг/кг, 0,4 мг/кг и 4 мг/кг мышам возрастом 9-10 недель дикого типа C57Bl6 и мышам сортилин-/- (нокаут по сортилину). Через 1,5 часа и через 6 часов после введения LPS у мышей собирали образцы сыворотки. Затем оценивали уровни цитокинов и хемокинов с использованием набора для определения воспаления у мышей с цитометрическим массивом гранул BD, включающим IL-6, TNF альфа (TNF- α), IFN гамма (IFN- γ), IL-10, IL12p70 и CCL2 и дополняющего набора, содержащего IL12/IL-23p40, IL-1 бета (IL-1 β), IL-1 альфа (IL-1 α), CXCL1, CCL3, CCL4 и CCL5. Через 6 часов после введения LPS для оценки миграции и инфильтрации клеток выполняли смыв брюшинной полости. Анализ выполняли с использованием системы BD FACSCanto II.

Результаты.

Результаты на фиг. 25А показывают, что через 6 часов после введения LPS сывороточные уровни програнулина были повышены у мышей с нокаутом по сортилину по сравнению с мышами дикого типа. В дополнение к этому, внутрибрюшинная инъекция 0 мг/кг, 0,4 мг/кг или 4 мг/кг LPS не оказывала влияния на сывороточные уровни програнулина (фиг. 25А). Как показано на фиг. 25b-25D, отсутствовали изменения в количестве нейтрофилов, больших перитонеальных (CD11b+F4/80hi) макрофагов или малых перитонеальных (CD11b+F4/80lo) макрофагов.

Как показано на фиг. 26А-26Н, сывороточные уровни провоспалительных цитокинов IL-6, IL12p70, IL12p40 и IL-1 бета были уменьшены у мышей с нокаутом по сортилину через 1,5 часа после введения 4 мг/кг LPS, по сравнению с мышами дикого типа. Наблюдали увеличение сывороточных уровней противовоспалительного цитокина IL-10 у мышей с нокаутом сортилина, которым вводили 0, 4 мг/кг LPS (фиг. 26D). Как показано на фиг. 27А-27Е, снижались уровни хемокинов, таких как CXCL1, CCL2, CCL3 и CCL5, которые отвечают за рекрутирование моноцитов, дендритных клеток, Т-клеток, нейтрофилов и других гранулоцитов, у мышей с нокаутом по сортилину через 1, 5 часа после введения LPS.

Как показано на фиг. 28А-28Н, у мышей с нокаутом по сортилину, которым за 6 часов вводили 0,4 мг/кг LPS, показано умеренное увеличение сывороточных уровней IL-6, а мышам с нокаутом по сорти-

лину, которым за 6 часов вводили 4 мг/кг LPS, показано уменьшение сывороточных уровней TNF альфа. Как показано на фиг. 29А-29Е, сывороточные уровни CCL2, CCL3 и CCL4 были снижены у мышей с нокаутом по сортилину, которым за 6 часов вводили LPS.

Результаты показывают, что увеличенные уровни програнулина у мышей с нокаутом сортилина могут обуславливать благоприятное влияние на ослабление воспалительного ответа на LPS. Антитела против сортилина, которые блокируют сортилин, обладают способностью поднимать уровни програнулина, которые также происходят у мышей с нокаутом по сортилина. Соответственно, считается, что антитела против сортилина по настоящему описанию могут обладать перекрывающимися действиями для мышей с нокаутом по сортилину, включая снижение провоспалительных цитокинов IL-6, TNF альфа, IL-12p40, и IL-1 бета; а также хемокинов CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5. Дополнительно считается, что антитела против сортилина могут также индуцировать дополнительные виды активности, индуцированные снижением или ингибированием сортилина, как это происходит у мышей с нокаутом по сортилину.

Перечень последовательностей

<110> ROSENTHAL, Arnon

<120> АНТИТЕЛА ПРОТИВ СОРТИЛИНА И СПОСОБЫ
ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

<130> 735022000240

<140> Не назначено

<141> Согласовано настоящим

<150> US 62/144270

<151> 2015-04-07

<160> 714

<170> FastSEQ для системы Windows, версия 4.0

<210> 1

<211> 830

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 1

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

043015

			180					185					190		
Arg	Gly	Gly	Arg	Ile	Phe	Arg	Ser	Ser	Asp	Phe	Ala	Lys	Asn	Phe	Val
		195					200					205			
Gln	Thr	Asp	Leu	Pro	Phe	His	Pro	Leu	Thr	Gln	Met	Met	Tyr	Ser	Pro
	210					215					220				
Gln	Asn	Ser	Asp	Tyr	Leu	Leu	Ala	Leu	Ser	Thr	Glu	Asn	Gly	Leu	Trp
225					230					235					240
Val	Ser	Lys	Asn	Phe	Gly	Gly	Lys	Trp	Glu	Glu	Ile	His	Lys	Ala	Val
				245					250					255	
Cys	Leu	Ala	Lys	Trp	Gly	Ser	Asp	Asn	Thr	Ile	Phe	Phe	Thr	Thr	Tyr
			260					265					270		
Ala	Asn	Gly	Ser	Cys	Lys	Ala	Asp	Leu	Gly	Ala	Leu	Glu	Leu	Trp	Arg
		275					280					285			
Thr	Ser	Asp	Leu	Gly	Lys	Ser	Phe	Lys	Thr	Ile	Gly	Val	Lys	Ile	Tyr
	290					295					300				
Ser	Phe	Gly	Leu	Gly	Gly	Arg	Phe	Leu	Phe	Ala	Ser	Val	Met	Ala	Asp
305					310					315					320
Lys	Asp	Thr	Thr	Arg	Arg	Ile	His	Val	Ser	Thr	Asp	Gln	Gly	Asp	Thr
				325					330					335	
Trp	Ser	Met	Ala	Gln	Leu	Pro	Ser	Val	Gly	Gln	Glu	Gln	Phe	Tyr	Ser
			340					345					350		
Ile	Leu	Ala	Ala	Asn	Asp	Asp	Met	Val	Phe	Met	His	Val	Asp	Glu	Pro
		355					360					365			
Gly	Asp	Thr	Gly	Phe	Gly	Thr	Ile	Phe	Thr	Ser	Asp	Asp	Arg	Gly	Ile
	370					375					380				
Val	Tyr	Ser	Lys	Ser	Leu	Asp	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Thr	Thr	Gly	Gly
385					390					395					400
Glu	Thr	Asp	Phe	Thr	Asn	Val	Thr	Ser	Leu	Arg	Gly	Val	Tyr	Ile	Thr
				405					410					415	
Ser	Val	Leu	Ser	Glu	Asp	Asn	Ser	Ile	Gln	Thr	Met	Ile	Thr	Phe	Asp
			420					425					430		
Gln	Gly	Gly	Arg	Trp	Thr	His	Leu	Arg	Lys	Pro	Glu	Asn	Ser	Glu	Cys
		435					440					445			
Asp	Ala	Thr	Ala	Lys	Asn	Lys	Asn	Glu	Cys	Ser	Leu	His	Ile	His	Ala
	450					455					460				
Ser	Tyr	Ser	Ile	Ser	Gln	Lys	Leu	Asn	Val	Pro	Met	Ala	Pro	Leu	Ser
465					470					475					480
Glu	Pro	Asn	Ala	Val	Gly	Ile	Val	Ile	Ala	His	Gly	Ser	Val	Gly	Asp
				485					490					495	
Ala	Ile	Ser	Val	Met	Val	Pro	Asp	Val	Tyr	Ile	Ser	Asp	Asp	Gly	Gly
			500					505					510		
Tyr	Ser	Trp	Thr	Lys	Met	Leu	Glu	Gly	Pro	His	Tyr	Tyr	Thr	Ile	Leu
		515					520								

Val	Glu	Gln	Pro	Glu	Leu	Lys	Gly	His	Asp	Leu	Glu	Phe	Cys	Leu	Tyr
690						695				700					
Gly	Arg	Glu	Glu	His	Leu	Thr	Thr	Asn	Gly	Tyr	Arg	Lys	Ile	Pro	Gly
705					710				715						720
Asp	Lys	Cys	Gln	Gly	Gly	Val	Asn	Pro	Val	Arg	Glu	Val	Lys	Asp	Leu
			725					730						735	
Lys	Lys	Lys	Cys	Thr	Ser	Asn	Phe	Leu	Ser	Pro	Glu	Lys	Gln	Asn	Ser
			740					745					750		
Lys	Ser	Asn	Ser	Val	Pro	Ile	Ile	Leu	Ala	Ile	Val	Gly	Leu	Met	Leu
		755						760				765			
Val	Thr	Val	Val	Ala	Gly	Val	Leu	Ile	Val	Lys	Lys	Tyr	Val	Cys	Gly
	770					775						780			
Gly	Arg	Phe	Leu	Val	His	Arg	Tyr	Ser	Val	Leu	Gln	Gln	His	Ala	Glu
785					790					795					800
Ala	Asn	Gly	Val	Asp	Gly	Val	Asp	Ala	Leu	Asp	Thr	Ala	Ser	His	Thr
				805					810					815	
Asn	Lys	Ser	Gly	Tyr	His	Asp	Asp	Ser	Asp	Glu	Asp	Leu	Leu		
			820					825					830		

<210> 2

<211> 825

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 2

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

Gly	Ser	Cys	Lys	Ala	Asp	Leu	Gly	Ala	Leu	Glu	Leu	Trp	Arg	Thr	Ser	275	280	285
Asp	Leu	Gly	Lys	Thr	Phe	Lys	Thr	Ile	Gly	Val	Lys	Ile	Tyr	Ser	Phe	290	295	300
Gly	Leu	Gly	Gly	Arg	Phe	Leu	Phe	Ala	Ser	Val	Met	Ala	Asp	Lys	Asp	305	310	315
Thr	Thr	Arg	Arg	Ile	His	Val	Ser	Thr	Asp	Gln	Gly	Asp	Thr	Trp	Ser	325	330	335
Met	Ala	Gln	Leu	Pro	Ser	Val	Gly	Gln	Glu	Gln	Phe	Tyr	Ser	Ile	Leu	340	345	350
Ala	Ala	Asn	Glu	Asp	Met	Val	Phe	Met	His	Val	Asp	Glu	Pro	Gly	Asp	355	360	365
Thr	Gly	Phe	Gly	Thr	Ile	Phe	Thr	Ser	Asp	Asp	Arg	Gly	Ile	Val	Tyr	370	375	380
Ser	Lys	Ser	Leu	Asp	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Thr	Thr	Gly	Gly	Glu	Thr	385	390	395
Asp	Phe	Thr	Asn	Val	Thr	Ser	Leu	Arg	Gly	Val	Tyr	Ile	Thr	Ser	Thr	405	410	415
Leu	Ser	Glu	Asp	Asn	Ser	Ile	Gln	Ser	Met	Ile	Thr	Phe	Asp	Gln	Gly	420	425	430
Gly	Arg	Trp	Glu	His	Leu	Arg	Lys	Pro	Glu	Asn	Ser	Lys	Cys	Asp	Ala	435	440	445
Thr	Ala	Lys	Asn	Lys	Asn	Glu	Cys	Ser	Leu	His	Ile	His	Ala	Ser	Tyr	450	455	460
Ser	Ile	Ser	Gln	Lys	Leu	Asn	Val	Pro	Met	Ala	Pro	Leu	Ser	Glu	Pro	465	470	475
Asn	Ala	Val	Gly	Ile	Val	Ile	Ala	His	Gly	Ser	Val	Gly	Asp	Ala	Ile	485	490	495
Ser	Val	Met	Val	Pro	Asp	Val	Tyr	Ile	Ser	Asp	Asp	Gly	Gly	Tyr	Ser	500	505	510
Trp	Ala	Lys	Met	Leu	Glu	Gly	Pro	His	Tyr	Tyr	Thr	Ile	Leu	Asp	Ser	515	520	525
Gly	Gly	Ile	Ile	Val	Ala	Ile	Glu	His	Ser	Asn	Arg	Pro	Ile	Asn	Val	530	535	540
Ile	Lys	Phe	Ser	Thr	Asp	Glu	Gly	Gln	Cys	Trp	Gln	Ser	Tyr	Val	Phe	545	550	555
Thr	Gln	Glu	Pro	Ile	Tyr	Phe	Thr	Gly	Leu	Ala	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	565	570	575
Arg	Ser	Met	Asn	Ile	Ser	Ile	Trp	Gly	Phe	Thr	Glu	Ser	Phe	Ile	Thr	580	585	590
Arg	Gln	Trp	Val	Ser	Tyr	Thr	Val	Asp	Phe	Lys	Asp	Ile	Leu	Glu	Arg	595	600	605
Asn	Cys	Glu	Glu	Asp	Asp	Tyr	Thr	Thr	Trp	Leu	Ala	His	Ser	Thr	Asp	610	615	620
Pro	Gly	Asp	Tyr	Lys	Asp	Gly	Cys	Ile	Leu	Gly	Tyr	Lys	Glu	Gln	Phe	625	630	635
Leu	Arg	Leu	Arg	Lys	Ser	Ser	Val	Cys	Gln	Asn	Gly	Arg	Asp	Tyr	Val	645	650	655
Val	Ala	Lys	Gln	Pro	Ser	Val	Cys	Pro	Cys	Ser	Leu	Glu	Asp	Phe	Leu	660	665	670
Cys	Asp	Phe	Gly	Tyr	Phe	Arg	Pro	Glu	Asn	Ala	Ser	Glu	Cys	Val	Glu	675	680	685
Gln	Pro	Glu	Leu	Lys	Gly	His	Glu	Leu	Glu	Phe	Cys	Leu	Tyr	Gly	Lys	690	695	700
Glu	Glu	His	Leu	Thr	Thr	Asn	Gly	Tyr	Arg	Lys	Ile	Pro	Gly	Asp	Lys	705	710	715
Cys	Gln	Gly	Gly	Met	Asn	Pro	Ala	Arg	Glu	Val	Lys	Asp	Leu	Lys	Lys	725	730	735
Lys	Cys	Thr	Ser	Asn	Phe	Leu	Asn	Pro	Thr	Lys	Gln	Asn	Ser	Lys	Ser	740	745	750
Asn	Ser	Val	Pro	Ile	Ile	Leu	Ala	Ile	Val	Gly	Leu	Met	Leu	Val	Thr	755	760	765
Val	Val	Ala	Gly	Val	Leu	Ile	Val	Lys	Lys	Tyr	Val	Cys	Gly	Gly	Arg			

043015

770		775		780											
Phe	Leu	Val	His	Arg	Tyr	Ser	Val	Leu	Gln	Gln	His	Ala	Glu	Ala	Asp
785					790					795					800
Gly	Val	Glu	Ala	Leu	Asp	Ser	Thr	Ser	His	Ala	Lys	Ser	Gly	Tyr	His
				805					810						815
Asp	Asp	Ser	Asp	Glu	Asp	Leu	Leu	Glu							
			820					825							

<210> 3

<211> 825

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 3

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

043015

		355					360					365				
Thr	Gly	Phe	Gly	Thr	Ile	Phe	Thr	Ser	Asp	Asp	Arg	Gly	Ile	Val	Tyr	
	370					375					380					
Ser	Lys	Ser	Leu	Asp	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Thr	Thr	Gly	Gly	Glu	Thr	
385					390					395					400	
Asp	Phe	Thr	Asn	Val	Thr	Ser	Leu	Arg	Gly	Val	Tyr	Ile	Thr	Ser	Thr	
				405					410					415		
Leu	Ser	Glu	Asp	Asn	Ser	Ile	Gln	Ser	Met	Ile	Thr	Phe	Asp	Gln	Gly	
			420					425					430			
Gly	Arg	Trp	Glu	His	Leu	Gln	Lys	Pro	Glu	Asn	Ser	Lys	Cys	Asp	Ala	
		435					440					445				
Thr	Ala	Lys	Asn	Lys	Asn	Glu	Cys	Ser	Leu	His	Ile	His	Ala	Ser	Tyr	
	450					455					460					
Ser	Ile	Ser	Gln	Lys	Leu	Asn	Val	Pro	Met	Ala	Pro	Leu	Ser	Glu	Pro	
465					470					475					480	
Asn	Ala	Val	Gly	Ile	Val	Ile	Ala	His	Gly	Ser	Val	Gly	Asp	Ala	Ile	
				485					490					495		
Ser	Val	Met	Val	Pro	Asp	Val	Tyr	Ile	Ser	Asp	Asp	Gly	Gly	Tyr	Ser	
			500					505					510			
Trp	Ala	Lys	Met	Leu	Glu	Gly	Pro	His	Tyr	Tyr	Thr	Ile	Leu	Asp	Ser	
		515					520					525				
Gly	Gly	Ile	Ile	Val	Ala	Ile	Glu	His	Ser	Asn	Arg	Pro	Ile	Asn	Val	
	530					535					540					
Ile	Lys	Phe	Ser	Thr	Asp	Glu	Gly	Gln	Cys	Trp	Gln	Ser	Tyr	Val	Phe	
545					550					555					560	
Ser	Gln	Glu	Pro	Val	Tyr	Phe	Thr	Gly	Leu	Ala	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	
				565					570					575		
Arg	Ser	Met	Asn	Ile	Ser	Ile	Trp	Gly	Phe	Thr	Glu	Ser	Phe	Leu	Thr	
			580					585					590			
Arg	Gln	Trp	Val	Ser	Tyr	Thr	Ile	Asp	Phe	Lys	Asp	Ile	Leu	Glu	Arg	
		595					600					605				
Asn	Cys	Glu	Glu	Asn	Asp	Tyr	Thr	Thr	Trp	Leu	Ala	His	Ser	Thr	Asp	
	610				615						620					
Pro	Gly	Asp	Tyr	Lys	Asp	Gly	Cys	Ile	Leu	Gly	Tyr	Lys	Glu	Gln	Phe	
625					630					635					640	
Leu	Arg	Leu	Arg	Lys	Ser	Ser	Val	Cys	Gln	Asn	Gly	Arg	Asp	Tyr	Val	
				645					650					655		
Val	Ala	Lys	Gln	Pro	Ser	Ile	Cys	Pro	Cys	Ser	Leu	Glu	Asp	Phe	Leu	
			660					665					670			
Cys	Asp	Phe	Gly	Tyr	Phe	Arg	Pro	Glu	Asn	Ala	Ser	Glu	Cys	Val	Glu	
		675					680					685				
Gln	Pro	Glu	Leu	Lys	Gly	His	Glu	Leu	Glu	Phe	Cys	Leu	Tyr	Gly	Lys	
	690					695					700					
Glu	Glu	His	Leu	Thr	Thr	Asn	Gly	Tyr	Arg	Lys	Ile	Pro	Gly	Asp	Arg	
705					710					715				</		

<210> 4

$\langle 211 \rangle$ 8

<212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 1
 <223> Хаа = S или T

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 2
 <223> Хаа = Любая аминокислота

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 3
 <223> Хаа = D или N

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 4, 5, 6, 7
 <223> Хаа = Любая аминокислота

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 8
 <223> Хаа = W, F или Y

<400> 4
 Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа Хаа
 1 5

<210> 5
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 1, 2, 4, 6, 8, 11
 <223> Хаа = Любая аминокислота

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 3
 <223> Хаа = S или T

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 5
 <223> Хаа = D или N

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 9
 <223> Хаа = T или S

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> 10

<223> Xaa = W, F или Y

<400> 5

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Gly	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
1				5					10	

<210> 6

<211> 12

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 6

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Arg	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ala
1				5					10		

<210> 7

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 7

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser	Ser	Tyr	Leu	Asn
1				5					10	

<210> 8

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 8

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser	Ser	Trp	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 9

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 9

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Asn	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 10
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 10
 Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 11
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 11
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu Ala
 1 5 10

<210> 12
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 12
 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
 1 5 10

<210> 13
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 13
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 14
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 14
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
 1 5 10

<210> 15
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Синтетическая конструкция

 <400> 15
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr Leu Asn
 1 5 10

 <210> 16
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Синтетическая конструкция

 <400> 16
 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Ser Trp Leu Ala
 1 5 10

 <210> 17
 <400> 17
 000

 <210> 18
 <400> 18
 000

 <210> 19
 <400> 19
 000

 <210> 20
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Синтетическая конструкция

 <400> 20
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Leu Ala
 1 5 10

 <210> 21
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 21

Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Arg	Trp	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 22

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 22

Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Ser	Trp	Leu	Ala
1				5					10	

<210> 23

<400> 23

000

<210> 24

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 24

Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser	Ser	Phe	Leu	Asn
1				5					10	

<210> 25

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 25

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Val	Leu	Tyr	Ser	Ser	Asn	Asn	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5						10				15	
Ala															

<210> 26

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 26
 Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
 1 5

<210> 27
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 27
 Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 1 5

<210> 28
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 28
 Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5

<210> 29
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 29
 Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr
 1 5

<210> 30
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 30
 Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
 1 5

<210> 31
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 31

Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 32

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 32

Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 33

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 33

Asp Ala Ser Lys Arg Ala Thr
1 5

<210> 34

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 34

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 35

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 35

Ser Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 36

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 36

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
 1 5

<210> 37

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 37

Ser Ala Ser Thr Arg Ala Thr
 1 5

<210> 38

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 38

Leu Gly Ser His Arg Ala Ser
 1 5

<210> 39

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 39

Asp Ser Ser Asn Arg Ala Thr
 1 5

<210> 40

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 40

Leu Ala Ser Asn Arg Ala Ser
 1 5

<210> 41

<211> 6

<212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 41
 Gln Gln Ser Pro Trp Thr
 1 5

<210> 42
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 42
 Gln Gln Ser Asp Val Ser Pro Ile Thr
 1 5

<210> 43
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 43
 Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Ile Thr
 1 5

<210> 44
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 44
 Gln Gln Phe Arg Val Leu Pro Pro Thr
 1 5

<210> 45
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 45
 Met Gln Val Ser Thr Glu Pro Pro Thr
 1 5

<210> 46
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 46
 Gln Gln Val Ala Asn Tyr Pro Arg Thr
 1 5

<210> 47
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 47
 Asp Gln Leu Gly Ser Ser Pro Arg Thr
 1 5

<210> 48
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 48
 Gln Gln Ala Lys Val Trp Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 49
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 49
 Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Leu Thr
 1 5

<210> 50
 <211> 10
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 50
 Gln Gln Tyr Ala Asp Trp Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

<210> 51
 <400> 51
 000

<210> 52
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 52
 Gln Gln Tyr Asn Asn His Pro Pro Thr
 1 5

<210> 53
 <400> 53
 000

<210> 54
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 54
 Gln Gln His Tyr Val Gly Pro Phe Thr
 1 5

<210> 55
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 55
 Gln Gln Ala Arg Leu Gly Pro Trp Thr
 1 5

<210> 56
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 56
 Gln Gln Gly Asn Ser Tyr Pro Ile Thr
 1 5

<210> 57
 <400> 57
 000

<210> 58
 <211> 10
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 58
 Gln Gln Gly Ala Asn Ala Pro Pro Arg Thr
 1 5 10

<210> 59
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 59
 Gln Gln Thr Asp Gly Lys Pro Pro Thr
 1 5

<210> 60
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 60
 Gln Gln Tyr Asp Gly Phe Pro Ile Thr
 1 5

<210> 61
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 61
 Gln Gln Lys Ala Ser Leu Pro Phe Thr
 1 5

<210> 62
 <211> 8
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 62
 Gln Gln Ala Asp Gly His Ile Thr
 1 5

<210> 63
 <400> 63
 000

<210> 64
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 64
 Gln Gln Val Ala Val Ser Pro Ile Thr
 1 5

<210> 65
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 65
 Gln Gln Tyr Asp Ser Ala Pro Ile Thr
 1 5

<210> 66
 <211> 10
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 66
 Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

<210> 67
 <400> 67
 000

<210> 68
 <211> 10
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 68

Met Gln Arg Leu Gln Ser Pro Leu Arg Thr
1 5 10

<210> 69

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 69

Met Gln Arg Ile Gln Gly Pro Pro Arg Thr
1 5 10

<210> 70

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 70

Met Gln Ala Leu Gly Pro Pro Ile Thr
1 5

<210> 71

<400> 71

000

<210> 72

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 72

Met Gln Gly Ile Glu Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 73

<400> 73

000

<210> 74

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 74
 Gln Gln Tyr Gly Ser Pro Pro Leu Thr
 1 5

<210> 75
 <400> 75
 000

<210> 76
 <400> 76
 000

<210> 77
 <400> 77
 000

<210> 78
 <400> 78
 000

<210> 79
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 79
 Met Gln Ala Ile Gln Gly Pro Ile Thr
 1 5

<210> 80
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 80
 Gln Gln Arg Ser Ala Leu Pro Phe Thr
 1 5

<210> 81
 <400> 81
 000

<210> 82
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 82

Gln Gln Ala Leu Arg Ser Pro Leu Thr
1 5

<210> 83

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 83

Gln Gln Leu Gly Ser His Pro Pro Thr
1 5

<210> 84

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 84

Gln Gln Leu Asp Ser Ser Pro Ile Thr
1 5

<210> 85

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 85

Gln Gln Ser Gly Ser Val Pro Pro Ile Thr
1 5 10

<210> 86

<400> 86

000

<210> 87

<400> 87

000

<210> 88

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 88

Gln Gln Tyr Asn Ser Trp Pro Ile Thr
1 5

<210> 89

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 89

Gln Gln Ala Gly Asp Tyr Pro Pro Thr
1 5

<210> 90

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 90

Met Gln Ala Leu Glu Arg Pro Pro Thr
1 5

<210> 91

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 91

Gln Gln Arg Ser Asn Tyr Pro Ile Thr
1 5

<210> 92

<400> 92

000

<210> 93

<400> 93

000

<210> 94

<400> 94

000

<210> 95

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 95

Gln Gln Ala Asn Ala Leu Pro Thr
1 5

<210> 96

<400> 96

000

<210> 97

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 97

Glu Gln Tyr Gly Gly Ser Pro Ile Thr
1 5

<210> 98

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 98

Gln Gln Asp Arg Lys Gly Pro Leu Thr
1 5

<210> 99

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 99

Gln Gln His Gly Arg Leu Pro Pro Trp Thr
1 5 10

<210> 100

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 100

Met Gln Gln Gln Glu Thr Pro Leu Thr
 1 5

<210> 101
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 101
 Gln Glu Tyr Leu Asn Tyr Pro Ile Thr
 1 5

<210> 102
 <400> 102
 000

<210> 103
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 103
 Gln Gln Leu Gly Ile Ala Pro Ile Thr
 1 5

<210> 104
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 104
 Gln Gln Leu Asp Ser Thr Pro Ile Thr
 1 5

<210> 105
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 105
 Met Gln Ala Arg Asp Gly Pro Ile Thr
 1 5

<210> 106
 <211> 10

<212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая конструкция
 <400> 106
 Glu Gln Ala Asn Ser Leu Pro Pro Ile Thr
 1 5 10

<210> 107
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 107
 Met Gln Arg Leu Glu Ala Pro Leu Thr
 1 5

<210> 108
 <400> 108
 000

<210> 109
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 109
 Gln Gln Ala Ala Asp Trp Pro Ile Thr
 1 5

<210> 110
 <400> 110
 000

<210> 111
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность
 <220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 111
 Gln Gln Ala Ala Ser Ser Pro Ile Thr
 1 5

<210> 112
 <211> 10
 <212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 112

Gln	Gln	Ala	Pro	Ser	Val	Pro	Pro	Ile	Thr
1				5					10

<210> 113

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 113

Gln	Gln	Ala	Ser	Val	Tyr	Pro	Pro	Ile	Thr
1				5					10

<210> 114

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 114

Gln	Gln	Glu	Thr	Asn	Met	Pro	Pro	Ile	Thr
1				5					10

<210> 115

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 115

Gln	Gln	Tyr	Asn	Ala	Leu	Pro	Arg	Thr
1				5				

<210> 116

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 116

Gln	Gln	Ser	Tyr	Arg	Glu	Pro	Ile	Thr
1				5				

<210> 117

<400> 117
000

<210> 118
<211> 9
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 118
Gln Gln Tyr Ala Asn Ala Pro Ile Thr
1 5

<210> 119
<400> 119
000

<210> 120
<400> 120
000

<210> 121
<211> 9
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 121
Met Gln Ala Leu Asp Val Pro Leu Thr
1 5

<210> 122
<211> 9
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 122
Gln Gln Ser His Val Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 123
<211> 9
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 123

Gln Gln Tyr Asn Ala Phe Pro Pro Thr
1 5

<210> 124

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 124

Met Gln Ala Ile Asp Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 125

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 125

Glu Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 126

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 126

Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 127

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 127

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 128

<400> 128

000

<210> 129

<211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 129
 Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met Ser
 1 5

<210> 130
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 130
 Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 131
 <400> 131
 000

<210> 132
 <400> 132
 000

<210> 133
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 133
 Phe Thr Phe Gly Asp Tyr Ala Met His
 1 5

<210> 134
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 134
 Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His
 1 5

<210> 135
 <211> 9

<212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 135
 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn
 1 5

<210> 136
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 136
 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
 1 5

<210> 137
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 137
 Phe Thr Phe Ser Ser Ser Ala Met Ser
 1 5

<210> 138
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 138
 Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Ser
 1 5

<210> 139
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 139
 Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Ser
 1 5

<210> 140
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 140
 Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His
 1 5

<210> 141
 <400> 141
 000

<210> 142
 <211> 10
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 142
 Tyr Ser Ile Ser Ser Gly Tyr Tyr Trp Gly
 1 5 10

<210> 143
 <400> 143
 000

<210> 144
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 144
 Gly Ser Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
 1 5 10

<210> 145
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 145
 Gly Ser Ile Ser Ser Gly Thr Tyr Tyr Trp Ser
 1 5 10

<210> 146

<400> 146
000

<210> 147
<211> 11
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 147
Gly Ser Ile Ser Ser Ser Asp Tyr Tyr Trp Gly
1 5 10

<210> 148
<211> 11
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 148
Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly
1 5 10

<210> 149
<211> 9
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 149
Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly
1 5

<210> 150
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 150
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 151
<211> 17
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 151

Ser	Ile	Asn	Pro	Asn	Ser	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 152

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 152

Ser	Ile	Ser	Ala	Tyr	Asn	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Leu	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 153

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 153

Trp	Ile	Ser	Ala	Tyr	Asn	Gly	Asn	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Leu	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 154

<400> 154

000

<210> 155

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 155

Ile	Ile	Asn	Pro	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 156

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 156

Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	
Gly															

<210> 157

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 157

Ser	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	
Gly															

<210> 158

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 158

Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	
Gly															

<210> 159

<400> 159

000

<210> 160

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 160

Gly	Ile	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ser	Ile	Gly	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	
Gly															

<210> 161

<211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 161
 Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 162
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 162
 Ser Ile Ser Ser Ser Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 163
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 163
 Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 164
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 164
 Ala Ile Ser Ala Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 165
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 165

Ser	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 166

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 166

Val	Ile	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5					10					15	

Gly

<210> 167

<400> 167

000

<210> 168

<400> 168

000

<210> 169

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 169

Ser	Ile	Tyr	His	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser
1				5					10					15	

<210> 170

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 170

Thr	Ile	Tyr	His	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu	Lys	Ser
1				5					10					15	

<210> 171

<211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 171
 Ser Ile Tyr His Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 172
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 172
 Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Val Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 173
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 173
 Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 174
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 174
 Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 175
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 175
 Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 176
 <400> 176
 000

<210> 177
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 177
 Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 178
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 178
 Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 179
 <211> 21
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 179
 Ala Arg Ser Pro Gly Gly Ala Thr Asp Gly Leu Val Tyr Tyr Tyr Tyr
 1 5 10 15
 Tyr Gly Met Asp Val
 20

<210> 180
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 180
 Ala Arg Gly Lys Arg Ser Ser Gly Trp Tyr Glu Gly Tyr Gly Met Asp
 1 5 10 15
 Val

<210> 181
 <211> 15
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 181
 Ala Arg Gly Gly Pro Gln Leu Arg Val Ala Glu Tyr Phe Gln His
 1 5 10 15

<210> 182
 <211> 13
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 182
 Ala Arg Arg His Arg Ser Ser Thr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 183
 <211> 19
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 183
 Ala Arg Gly Val Gly Ser Thr Val Thr Leu Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15
 Met Asp Val

<210> 184
 <211> 18
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 184
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Gly Thr Thr Leu His Tyr Tyr Tyr Gly Met
 1 5 10 15
 Asp Val

<210> 185
 <211> 20
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 185

Ala	Arg	Gln	Gly	Gly	His	Asp	Ser	Pro	Thr	Leu	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr
1				5					10					15	
Gly	Met	Asp	Val												
			20												

<210> 186

<211> 19

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 186

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

<210> 187

<400> 187

000

<210> 188

<211> 14

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 188

Ala	Arg	Asp	Leu	Pro	Lys	Tyr	Lys	Trp	Gly	Trp	Phe	Asp	Pro
1				5					10				

<210> 189

<400> 189

000

<210> 190

<211> 22

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 190

Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Ser	Arg	Tyr
1				5					10					15	
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val										
			20												

<210> 191

<211> 13
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 191
 Ala Arg Ser Pro Tyr Ser Gly Thr Arg Asp Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 192
 <400> 192
 000

<210> 193
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 193
 Ala Arg Asp Lys His Gly Arg Arg Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 194
 <211> 19
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 194
 Ala Arg Glu Ser Arg Ile Pro Gly Ser Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 1 5 10 15
 Met Asp Val

<210> 195
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 195
 Ala Arg Glu Gly Arg Met Ser Gly Trp Tyr Tyr Ala Tyr Gly Met Asp
 1 5 10 15
 Val

<210> 196
 <211> 17
 <212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 196

Ala	Arg	Glu	Arg	Arg	Tyr	Asp	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp
1				5				10						15	
Val															

<210> 197

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 197

Ala	Arg	Gln	Gly	Arg	Lys	Thr	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp
1				5				10						15	
Val															

<210> 198

<400> 198

000

<210> 199

<211> 12

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 199

Ala	Lys	Pro	Leu	Tyr	Arg	Gly	Gly	Pro	Phe	Asp	Ile
1				5				10			

<210> 200

<211> 15

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 200

Ala	Lys	Gly	Val	Gly	Gln	Val	Pro	Ala	Ser	Val	Ala	Phe	Asp	Ile
1				5				10					15	

<210> 201

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 201

Ala	Arg	Asp	Arg	Leu	Gly	Arg	Gly	Tyr	Lys	Trp	Asn	Trp	Phe	Asp	Pro
1				5					10					15	

<210> 202

<400> 202

000

<210> 203

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 203

Ala	Arg	Gly	Gly	Leu	Asp	Arg	Trp	Gly	Ser	Phe	Asp	Ile
1				5					10			

<210> 204

<211> 8

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 204

Ala	Arg	Gly	Asp	Gly	Met	Asp	Val
1				5			

<210> 205

<400> 205

000

<210> 206

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 206

Ala	Lys	Arg	Gly	Tyr	Pro	Gly	Tyr	Pro	Ala	Phe	Asp	Ile
1				5					10			

<210> 207

<400> 207

000

<210> 208
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 208
 Ala Lys Thr Gly Gly Thr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 209
 <400> 209
 000

<210> 210
 <400> 210
 000

<210> 211
 <400> 211
 000

<210> 212
 <400> 212
 000

<210> 213
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 213
 Ala Lys Pro Leu Ser Ser Thr Gly Gly Gly Asn Ile
 1 5 10

<210> 214
 <211> 15
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 214
 Ala Arg Glu Val Met Ala Arg Ala Arg Thr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 215
 <400> 215
 000

<210> 216
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 216
 Ala Lys Leu Tyr Gln Gly Thr Pro Asp Phe Asp Leu
 1 5 10

<210> 217
 <211> 18
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 217
 Ala Lys Val Gly Gly Met Tyr Asp Gly Gly Val Tyr Tyr Tyr Gly Met
 1 5 10 15
 Asp Val

<210> 218
 <211> 14
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 218
 Ala Lys Thr Pro Ser Ser Ile Tyr Ala Ala Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 219
 <211> 14
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 219
 Ala Arg Val Arg Gly Tyr Gly Gly Ser Asn Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10

<210> 220
 <400> 220
 000

<210> 221
 <400> 221
 000

<210> 222
 <211> 20
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 222
 Ala Arg Glu Ser Gly Asp Arg Ala Thr Leu Val Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
 1 5 10 15
 Gly Met Asp Val
 20

<210> 223
 <211> 19
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 223
 Ala Arg Asp Arg Gly Gly Tyr Ser Ser Leu Leu Pro Tyr Tyr Tyr Tyr
 1 5 10 15
 Met Asp Val

<210> 224
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 224
 Ala Arg Asp Ala Tyr Glu Gly Arg Val Asp Val
 1 5 10

<210> 225
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 225
 Ala Lys Gly Leu Glu Tyr Tyr Asp Ser Ser Arg Leu Tyr Tyr Pro Tyr
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Tyr Met Asp Val
 20

<210> 226
 <400> 226
 000

<210> 227
 <400> 227
 000

<210> 228
 <400> 228
 000

<210> 229
 <211> 15
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 229
 Ala Arg Gly Arg Pro Glu Leu Gly Trp Asp Lys Tyr Phe Gln His
 1 5 10 15

<210> 230
 <400> 230
 000

<210> 231
 <211> 19
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 231
 Ala Arg Gly Pro Leu Lys Phe Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Gly Phe
 1 5 10 15
 Phe Asp Tyr

<210> 232
 <211> 14
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 232
 Ala Arg Gly Pro Pro Glu Leu Gly Lys Met Tyr Phe Gln His
 1 5 10

<210> 233
 <211> 15
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 233

Ala	Arg	Gln	Gly	Ser	Ile	Lys	Gln	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val
1				5				10					15	

<210> 234

<211> 20

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 234

Ala	Arg	Gly	Ser	Pro	Arg	Phe	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Gly	Ser	Tyr	Leu	Asp
1				5					10					15	
Leu	Phe	Asp	Ile												
			20												

<210> 235

<400> 235

000

<210> 236

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 236

Ala	Arg	Ala	Glu	His	Arg	Gly	Pro	Arg	Tyr	Phe	Asp	Leu
1				5					10			

<210> 237

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 237

Ala	Arg	Glu	Gly	Gln	Leu	Pro	Thr	Gly	Thr	Phe	Asp	Tyr
1				5					10			

<210> 238

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 238

Ala Arg Asp Val Gly Arg Thr Gly Pro His Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 239

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 239

Ala Arg Leu His Ser Asp Tyr Ser Val Leu Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 240

<400> 240

000

<210> 241

<211> 20

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 241

Ala Arg Asp Arg Gly Gly Thr His Phe Gly Ala Asp His Tyr Tyr Tyr
 1 5 10 15
 Gly Met Asp Val
 20

<210> 242

<400> 242

000

<210> 243

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 243

Ala Arg Leu Pro Gly Tyr Pro Leu Gly Leu Phe Asp Ile
 1 5 10

<210> 244

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 244

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

<210> 245

<211> 12

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 245

Ala	Arg	Gly	Val	Gly	Arg	Tyr	Arg	Val	Ala	Asp	Tyr
1				5					10		

<210> 246

<211> 18

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 246

Ala	Arg	Asp	Arg	Gly	Met	Gly	Pro	Lys	Leu	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Met
1				5					10					15	

Asp Val

<210> 247

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 247

Ala	Arg	Gly	Val	Gly	Ile	Gln	Gln	Gln	Leu	Val	Leu	Gly	Phe	Asp	Pro
1				5					10					15	

<210> 248

<400> 248

000

<210> 249

<211> 13

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 249

Ala	Arg	Ser	Leu	Ala	Met	Ser	Gly	Ala	Tyr	Phe	Asp	Leu
1				5					10			

<210> 250
 <400> 250
 000

<210> 251
 <400> 251
 000

<210> 252
 <211> 13
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 252
 Ala Arg Glu Arg Trp Asp Leu Gly His Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 253
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 253
 Ala Arg Gly Val Gly Ser Gly Tyr Ser Tyr Gly Tyr Arg Tyr Phe Asp
 1 5 10 15
 Tyr

<210> 254
 <211> 15
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 254
 Ala Arg Gly Ser Pro Thr Trp Leu Arg Asp Tyr Tyr Met Asp Val
 1 5 10 15

<210> 255
 <211> 12
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 255
 Ala Arg Gly Gly Thr Thr Trp Leu Val Ala Asp Val
 1 5 10

<210> 256
 <211> 18
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 256
 Ala Arg Gly Arg Gly Arg Tyr Ser Tyr Gly Tyr His Lys Ala Ala Phe
 1 5 10 15
 Asp Ile

<210> 257
 <211> 23
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 257
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
 20

<210> 258
 <211> 23
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 258
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

<210> 259
 <211> 23
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 259
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

<210> 260

<211> 23
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 260
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
 20

<210> 261
 <211> 23
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 261
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys
 20

<210> 262
 <211> 23
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 262
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
 20

<210> 263
 <211> 23
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 263
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

<210> 264
 <211> 23
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 264

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys									
			20												

<210> 265

<211> 23

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 265

Glu	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys									
			20												

<210> 266

<211> 23

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 266

Glu	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys									
			20												

<210> 267

<211> 23

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 267

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Gly
1				5					10					15	
Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys									
			20												

<210> 268

<211> 23

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 268

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 20

<210> 269

<211> 15

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 269

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 270

<211> 15

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 270

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 271

<211> 15

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 271

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr
 1 5 10 15

<210> 272

<211> 15

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 272

Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Phe
 1 5 10 15

<210> 273

<211> 15

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 273

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5				10					15	

<210> 274

<211> 15

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 274

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Ser
1				5				10					15	

<210> 275

<211> 15

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 275

Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser	Pro	Gln	Val	Leu	Ile	Tyr
1				5				10					15	

<210> 276

<211> 32

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 276

Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5				10					15		
Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 277

<211> 32

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 277

Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5				10					15		
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys

20

25

30

<210> 278

<211> 32

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 278

Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr
1				5				10					15		
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Asp	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 279

<211> 32

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 279

Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr
1				5				10					15		
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 280

<211> 32

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 280

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

<210> 281

<211> 32

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 281

Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5				10					15		
Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Glu	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 282
 <211> 32
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 282
 Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 283
 <211> 10
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 283
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10

<210> 284
 <211> 26
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 284
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 20 25

<210> 285
 <211> 26
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 285
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
 20 25

<210> 286
 <400> 286
 000

<210> 287
 <211> 26
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 287
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 20 25

<210> 288
 <211> 26
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 288
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 20 25

<210> 289
 <211> 26
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 289
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 20 25

<210> 290
 <211> 26
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 290
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 20 25

<210> 291
 <211> 26
 <212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 291

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Ser	Gly						
			20					25							

<210> 292

<211> 26

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 292

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Gln
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly						
			20					25							

<210> 293

<400> 293

000

<210> 294

<211> 26

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 294

Gln	Leu	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly						
			20					25							

<210> 295

<211> 26

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 295

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu
1				5					10					15	
Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Gly	Ser	Gly						
			20					25							

<210> 296

<211> 14
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 296
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
 1 5 10

<210> 297
 <211> 14
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 297
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala
 1 5 10

<210> 298
 <211> 14
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 298
 Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
 1 5 10

<210> 299
 <211> 14
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 299
 Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 1 5 10

<210> 300
 <211> 14
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 300
 Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 1 5 10

<210> 301
 <211> 14
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 301
 Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly
 1 5 10

<210> 302
 <211> 30
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 302
 Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 303
 <211> 30
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 303
 Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
 1 5 10 15
 Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 304
 <211> 30
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 304
 Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 305
 <211> 30
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 305

Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
			20					25					30		

<210> 306

<211> 30

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 306

Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gln
1				5					10					15	
Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
			20					25					30		

<210> 307

<211> 30

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 307

Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gln
1				5					10					15	
Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Leu	Tyr	Tyr	Cys		
			20					25					30		

<210> 308

<211> 30

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 308

Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln
1				5					10					15	
Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
			20					25					30		

<210> 309

<211> 30

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 309

Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser	Leu	Lys
1				5					10					15	
Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
			20					25					30		

<210> 310

<211> 30

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 310

Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr	Leu	Gln
1				5					10					15	
Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys		
			20					25					30		

<210> 311

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 311

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 312

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 312

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 313

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 313

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 314

<211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 314
 Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 315
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 315
 Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10

<210> 316
 <400> 316
 000

<210> 317
 <211> 105
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 317
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Pro Trp Thr Phe
 85 90 95
 Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 318
 <211> 128
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 318

```

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

```

<210> 319

<211> 107

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 319

```

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

```

<210> 320

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 320

```

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

```


Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Arg Ser Ser Gly Trp Tyr Glu Gly Tyr Gly Met Asp
 100 105 110
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 321

<211> 107

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 321

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

<210> 322

<211> 122

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 322

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

<210> 323

<211> 107

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 323

```

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

```

<210> 324

<211> 112

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 324

```

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

```

<210> 325

<211> 120

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 325

```

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

```

043015

50		55		60	
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr					
65		70		75	80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys					
	85		90		95
Ala Arg Arg His Arg Ser Ser Thr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln					
	100		105		110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser					
	115		120		

<210> 326

<211> 107

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 326

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

<210> 327

<211> 126

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 327

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

<210> 328
 <211> 108
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 328
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Asp Gln Leu Gly Ser Ser Pro
 85 90 95
 Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 329
 <211> 125
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 329
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ser Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Gly Thr Thr Leu His Tyr Tyr Tyr Gly Met
 100 105 110
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 330
 <211> 108
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 330
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys Val Trp Pro
 85 90 95
 Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 331

<211> 127

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 331

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

<210> 332

<211> 107

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 332

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

100

105

<210> 333
 <211> 126
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 333
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Gly Gly Tyr Gly Pro Thr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 334
 <211> 108
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 334
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ala Asp Trp Pro Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 335
 <400> 335
 000

<210> 336
 <400> 336
 000

<210> 337
 <211> 107
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 337
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn His Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 338
 <211> 121
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 338
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Leu Pro Lys Tyr Lys Trp Gly Trp Phe Asp Pro Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 339
 <400> 339
 000

<210> 340
 <400> 340
 000

<210> 341
 <211> 107
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 341
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Val Gly Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 342
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 342
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 343
 <211> 107
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 343

```

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

```

<210> 344

<211> 107

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 344

```

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

```

<210> 345

<211> 120

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 345

```

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

```

043015

Ala Arg Ser Pro Tyr Ser Gly Thr Arg Asp Phe Asp Leu Trp Gly Arg
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 346
 <400> 346
 000

<210> 347
 <400> 347
 000

<210> 348
 <211> 108
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 348
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ala Asn Ala Pro Pro
 85 90 95
 Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 349
 <211> 123
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 349
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ser Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Lys His Gly Arg Arg Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val

043015

	100		105		110
Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Thr
			Val	Thr	Val
				Ser	Ser
	115		120		

<210> 350
 <211> 107
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 350
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Asp Gly Lys Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 351
 <211> 126
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 351
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Ser Arg Ile Pro Gly Ser Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 352
 <211> 108
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 352

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

<210> 353

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 353

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

<210> 354

<211> 107

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 354

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

043015

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Lys Ala Ser Leu Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 355

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 355

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

<210> 356

<211> 106

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 356

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

<210> 357

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 357

```

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

```

<210> 358

<400> 358

000

<210> 359

<400> 359

000

<210> 360

<211> 108

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 360

```

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

```

<210> 361

<211> 119

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 361

```

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

```

<210> 362

<211> 108

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 362

```

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

```

<210> 363

<211> 122

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 363

```

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

```

```

Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
 50                      55                      60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65                      70                      75                      80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
                      85                      90                      95
Ala Lys Gly Val Gly Gln Val Pro Ala Ser Val Ala Phe Asp Ile Trp
                      100                      105                      110
Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
                      115                      120

```

<210> 364
 <211> 108
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

```

<400> 364
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1                      5                      10                      15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Ser Trp
                20                      25                      30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
                35                      40                      45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50                      55                      60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65                      70                      75                      80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Pro
                85                      90                      95
Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
                100                      105

```

<210> 365
 <211> 123
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

```

<400> 365
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1                      5                      10                      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
                20                      25                      30
Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
                35                      40                      45
Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50                      55                      60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65                      70                      75                      80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                      90                      95
Ala Arg Asp Arg Leu Gly Arg Gly Tyr Lys Trp Asn Trp Phe Asp Pro
                100                      105                      110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
                115                      120

```


<210> 366
 <400> 366
 000

<210> 367
 <400> 367
 000

<210> 368
 <211> 113
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 368
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Arg
 85 90 95
 Leu Gln Ser Pro Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110
 Lys

<210> 369
 <211> 120
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 369
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Leu Asp Arg Trp Gly Ser Phe Asp Ile Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 370
 <211> 113
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 370
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Arg
 85 90 95
 Ile Gln Gly Pro Pro Arg Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
 100 105 110
 Lys

<210> 371
 <211> 112
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 371
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Leu Gly Pro Pro Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 372
 <211> 115
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 372

043015

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

<210> 373
 <400> 373
 000

<210> 374
 <400> 374
 000

<210> 375
 <211> 112
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

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

<210> 376
 <211> 120
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly

043015

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

<210> 377

<400> 377

000

<210> 378

<400> 378

000

<210> 379

<211> 108

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 379

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

<210> 380

<211> 118

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 380

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly		
1				5					10					15			

043015

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

<210> 381
 <400> 381
 000

<210> 382
 <400> 382
 000

<210> 383
 <400> 383
 000

<210> 384
 <400> 384
 000

<210> 385
 <400> 385
 000

<210> 386
 <400> 386
 000

<210> 387
 <400> 387
 000

<210> 388
 <400> 388
 000

<210> 389
 <211> 112
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 389

```

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

```

<210> 390

<211> 119

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 390

```

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

```

<210> 391

<211> 107

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 391

```

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

```

043015

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ala Leu Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 392

<211> 122

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 392

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

<210> 393

<400> 393

000

<210> 394

<400> 394

000

<210> 395

<211> 108

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 395

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

043015

65					70					75				80	
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ala	Leu	Arg	Ser	Pro
				85					90					95	
Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys				
			100					105							

<210> 396
 <211> 119
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 396
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Leu Tyr Gln Gly Thr Pro Asp Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 397
 <211> 108
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 397
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Gly Ser His Pro
85 90 95
Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 398
 <211> 125
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 398

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

<210> 399

<211> 108

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 399

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

<210> 400

<211> 121

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 400

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

```

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50          55          60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65          70          75          80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95
Ala Lys Thr Pro Ser Ser Ile Tyr Ala Gly Met Asp Val Trp Gly
          100          105          110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

<210> 401
 <211> 109
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

```

<400> 401
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1          5          10          15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20          25          30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35          40          45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50          55          60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65          70          75          80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gly Ser Val Pro
          85          90          95
Pro Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100          105

```

<210> 402
 <211> 121
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

```

<400> 402
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20          25          30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35          40          45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50          55          60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65          70          75          80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95
Ala Arg Val Arg Gly Tyr Gly Gly Ser Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
          100          105          110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

<210> 403
<400> 403
000

<210> 404
<400> 404
000

<210> 405
<400> 405
000

<210> 406
<400> 406
000

<210> 407
<211> 107
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 407
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Trp Pro Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 408
<211> 127
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 408
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

043015

Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90						95	
Ala	Arg	Glu	Ser	Gly	Asp	Arg	Ala	Thr	Leu	Val	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr
			100					105					110		
Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	
		115					120					125			

<210> 409

<211> 108

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 409

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

<210> 410

<211> 126

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 410

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

<210> 411

<211> 112
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 411
 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
 85 90 95
 Leu Glu Arg Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 412
 <211> 118
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 412
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Ala Tyr Glu Gly Arg Val Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Met Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 413
 <211> 107
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 413
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr

043015

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

<210> 414

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 414

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

Ser

<210> 415

<400> 415

000

<210> 416

<400> 416

000

<210> 417

<400> 417

000

<210> 418

<400> 418

000

<210> 419

<400> 419
000

<210> 420
<400> 420
000

<210> 421
<211> 106
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 421
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Arg Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ala Leu Pro Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 422
<211> 122
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 422
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30
Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Arg Pro Glu Leu Gly Trp Asp Lys Tyr Phe Gln His Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 423
<400> 423

000

<210> 424

<400> 424

000

<210> 425

<211> 108

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 425

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

<210> 426

<211> 126

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 426

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

<210> 427

<211> 107

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 427

```

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

```

<210> 428

<211> 121

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 428

```

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

```

<210> 429

<211> 109

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 429

```

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1           5           10           15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
          20           25           30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

```

043015

		35						40					45						
Ile	Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Asp	Arg	Phe	Ser				
	50					55					60								
Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Arg	Leu	Glu				
65					70					75					80				
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	His	Gly	Arg	Leu	Pro				
			85						90					95					
Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys							
			100					105											

<210> 430

<211> 112

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 430

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

<210> 431

<211> 122

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 431

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

<210> 432
 <211> 107
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 432
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Glu Tyr Leu Asn Tyr Pro Ile
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 433
 <211> 127
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 433
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30
 Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Ser Pro Arg Phe Tyr Tyr Gly Ser Gly Ser Tyr Leu Asp
 100 105 110
 Leu Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 434
 <400> 434
 000

<210> 435
 <400> 435
 000

<210> 436

<211> 108
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 436
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Gly Ile Ala Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 437
 <211> 120
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 437
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30
 Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80
 Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Glu His Arg Gly Pro Arg Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 438
 <211> 107
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 438
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Ser Tyr

043015

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

<210> 439

 $\langle 211 \rangle$ 112

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<2.2.0>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 439

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

$\langle 210 \rangle$ 440

$\langle 211 \rangle$ 120

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<223> Синтетическая конструкция

 $\langle 400 \rangle$ 440

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

<210> 441
 <211> 108
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 441
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Glu Gln Ala Asn Ser Leu Pro Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 442
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 442
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30
 Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Val Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Val Gly Arg Thr Gly Pro His Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 443
 <211> 112
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 443

043015

```

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

```

<210> 444

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 444

```

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

```

<210> 445

<400> 445

000

<210> 446

<400> 446

000

<210> 447

<211> 107

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 447

```

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

```

043015

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

<210> 448

<211> 128

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 448

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

<210> 449

<400> 449

000

<210> 450

<400> 450

000

<210> 451

<211> 108

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 451

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
1				5					10					15		

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Ala Ser Ser Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 452

<211> 121

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 452

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

<210> 453

<211> 108

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 453

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

100

105

<210> 454
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 454
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30
 Thr Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Leu Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Arg Gly Arg Thr Glu Ser Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 455
 <211> 108
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 455
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Ser Val Tyr Pro Pro
 85 90 95
 Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 456
 <211> 120
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 456

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

<210> 457

<211> 108

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 457

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

<210> 458

<211> 107

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 458

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

043015

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ala Leu Pro Arg
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 459
 <211> 126
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 459
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
 20 25 30
 Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Ile Gly Asn Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg Asp Arg Gly Met Gly Pro Lys Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 460
 <211> 107
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 460
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Phe
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Ser Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Glu Pro Ile
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 461
 <211> 124
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 461

```

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

```

<210> 462

<400> 462

000

<210> 463

<400> 463

000

<210> 464

<211> 113

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 464

```

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

```

<210> 465

<211> 121

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 465

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

<210> 466

<400> 466

000

<210> 467

<400> 467

000

<210> 468

<400> 468

000

<210> 469

<400> 469

000

<210> 470

<211> 112

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 470

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

043015

				85					90					95			
Leu	Asp	Val	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys		
				100				105					110				

<210> 471
 <211> 121
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 471

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

<210> 472
 <211> 108
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 472

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

<210> 473
 <211> 125
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 473

```

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

```

<210> 474

<211> 107

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 474

```

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

```

<210> 475

<211> 123

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 475

```

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1           5           10           15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
      20           25           30
Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
      35           40           45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
 50           55           60

```


043015

```

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65          70          75          80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
          85          90          95
Cys Ala Arg Gly Ser Pro Thr Trp Leu Arg Asp Tyr Tyr Met Asp Val
          100        105        110
Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

<210> 476
 <211> 112
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

```

<400> 476
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1          5          10          15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
          20          25          30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
          35          40          45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
          50          55          60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65          70          75          80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
          85          90          95
Ile Asp Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
          100        105        110

```

<210> 477
 <211> 120
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

```

<400> 477
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1          5          10          15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
          20          25          30
Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
          35          40          45
Trp Ile Gly Ser Ile Ser Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
          50          55          60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65          70          75          80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
          85          90          95
Cys Ala Arg Gly Gly Thr Thr Trp Leu Val Ala Asp Val Trp Gly Gln
          100        105        110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
          115          120

```

<210> 478

<211> 108
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 478
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser
 20 25 30
 Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Gln Tyr Ala Ser Ser Pro
 85 90 95
 Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 479
 <211> 125
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 479
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Thr Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Arg Gly Arg Tyr Ser Tyr Gly Tyr His Lys Ala Ala Phe
 100 105 110
 Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 480
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 4
 <223> Xaa = T, G, V, P, L, F, A или R

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 5
 <223> Xaa = G, A или S

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 7
 <223> Xaa = Y, M или L

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 9
 <223> Xaa = H или W

<400> 480
 Tyr Thr Phe Xaa Xaa Tyr Xaa Met Xaa
 1 5

<210> 481
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 1
 <223> Xaa = W, I или G

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 2
 <223> Xaa = I, V или T

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 3
 <223> Xaa = N, G или L

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 5
 <223> Xaa = N, S, V или M

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 6
 <223> Xaa = S, G, W или Q

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 8
 <223> Xaa = G, F, A, Y, S, N или R

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 10
 <223> Xaa = N, R, S или M

<400> 481

Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Gly Xaa Thr Xaa Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 482

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 482

Tyr Thr Phe Gly Ala Tyr Tyr Met His
 1 5

<210> 483

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 483

Tyr Thr Phe Val Ala Tyr Tyr Met His
 1 5

<210> 484

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 484

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Met Met His
 1 5

<210> 485

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 485

Tyr Thr Phe Pro Gly Tyr Leu Met His
 1 5

<210> 486

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 486

Tyr Thr Phe Leu Ala Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 487

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 487

Tyr Thr Phe Phe Ser Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 488

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 488

Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Leu Met His
1 5

<210> 489

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 489

Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr Tyr Met Trp
1 5

<210> 490

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 490

Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 491

<211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 491
 Tyr Thr Phe Gly Gly Tyr Leu Met His
 1 5

<210> 492
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 492
 Tyr Thr Phe Arg Ala Tyr Tyr Met His
 1 5

<210> 493
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 493
 Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Phe Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 494
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 494
 Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Ala Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 495
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 495

Trp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 496

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 496

Ile Ile Gly Pro Ser Gly Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 497

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 497

Trp Ile Asn Pro Val Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 498

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 498

Trp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 499

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 499

Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15

Gly

<210> 500
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 500
 Trp Ile Asn Pro Ser Gly Gly Asn Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 501
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 501
 Trp Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 502
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 502
 Gly Ile Leu Pro Ser Gly Gly Arg Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 503
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 503
 Trp Ile Asn Pro Ser Trp Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 504
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 504
 Trp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Met Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 505
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 505
 Trp Thr Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 506
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 506
 Trp Ile Asn Pro Met Ser Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 507
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 507
 Trp Ile Asn Pro Ser Gln Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 508
 <211> 11

<212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

 <220>
 <223> Синтетическая конструкция

 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 6
 <223> Xaa = V или I

 <220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 7
 <223> Xaa = S или G

 <400> 508
 Arg Ala Ser Gln Ser Xaa Xaa Ser Asn Leu Ala
 1 5 10

<210> 509
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 3
 <223> Xaa = F или L

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 4
 <223> Xaa = T или A

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 5
 <223> Xaa = S или K

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 6
 <223> Xaa = Y, T, R, L, T, G, Q или H

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 7
 <223> Xaa = Y, T или L

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 8
 <223> Xaa = M или I

<400> 509
 Tyr Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser
 1 5

<210> 510
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 1
 <223> Xaa = I или V

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 5
 <223> Xaa = S, W, Y, V, F, L или I

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 8
 <223> Xaa = S или T

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 9
 <223> Xaa = T или A

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 13
 <223> Xaa = Q или R

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 14
 <223> Xaa = K или R

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 16
 <223> Xaa = Q или R

<400> 510
 Xaa Ile Asn Pro Xaa Gly Gly Xaa Xaa Ser Tyr Ala Xaa Xaa Phe Xaa
 1 5 10 15
 Gly

<210> 511
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 1
 <223> Xaa = A, V или T

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 5
 <223> Xaa = S, F или G

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 7
 <223> Xaa = I или A

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 8
 <223> Xaa = A или G

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 9
 <223> Xaa = A, L или V

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 10
 <223> Xaa = A, L или P

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 11
 <223> Xaa = G, F или Y

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 13
 <223> Xaa = A, G или F

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 14
 <223> Xaa = S, G, A

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 16
 <223> Xaa = Y, G, P, H или S

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 17
 <223> Xaa = Y или N

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 18
 <223> Xaa = Y, L, Q или R

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 20
 <223> Xaa = M или L

<400> 511
 Xaa Arg Asp Pro Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Xaa Arg Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa Gly Xaa Asp Val
20

<210> 512
<211> 11
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 512
Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Asn Leu Ala
1 5 10

<210> 513
<211> 9
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 513
Tyr Thr Phe Thr Ser Thr Tyr Met Ser
1 5

<210> 514
<211> 9
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 514
Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Thr Met Ser
1 5

<210> 515
<211> 9
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 515
Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Leu Met Ser
1 5

<210> 516
<211> 9
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 516

Tyr Thr Phe Thr Ser Arg Tyr Met Ser
1 5

<210> 517

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 517

Tyr Thr Phe Ala Ser Arg Tyr Met Ser
1 5

<210> 518

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 518

Tyr Thr Leu Thr Ser Arg Tyr Met Ser
1 5

<210> 519

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 519

Tyr Thr Phe Thr Ser Leu Tyr Ile Ser
1 5

<210> 520

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 520

Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr Tyr Met Ser
1 5

<210> 521

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 521

Tyr Thr Phe Thr Ser Leu Tyr Met Ser
 1 5

<210> 522

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 522

Tyr Thr Phe Thr Ser Gly Tyr Met Ser
 1 5

<210> 523

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 523

Tyr Thr Phe Thr Ser Gln Tyr Met Ser
 1 5

<210> 524

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 524

Tyr Thr Phe Thr Ser His Tyr Met Ser
 1 5

<210> 525

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 525

Ile Ile Asn Pro Trp Gly Gly Thr Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 526

<211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 526
 Ile Ile Asn Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 527
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 527
 Ile Ile Asn Pro Val Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 528
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 528
 Val Ile Asn Pro Phe Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 529
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 529
 Ile Ile Asn Pro Val Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Arg
 1 5 10 15
 Gly

<210> 530
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 530

Ile	Ile	Asn	Pro	Val	Gly	Gly	Ser	Ala	Ser	Tyr	Ala	Arg	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 531

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 531

Ile	Ile	Asn	Pro	Leu	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 532

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 532

Val	Ile	Asn	Pro	Val	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 533

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 533

Ile	Ile	Asn	Pro	Ile	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 534

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 534

Ile	Ile	Asn	Pro	Ile	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Arg
1				5					10					15	

Gly

<210> 535

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 535

Ile	Ile	Asn	Pro	Ile	Gly	Gly	Ser	Ala	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 536

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 536

Ile	Ile	Asn	Pro	Ile	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Arg	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 537

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 537

Ile	Ile	Asn	Pro	Ile	Gly	Gly	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 538

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 538

Ile	Val	Asn	Pro	Ile	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Arg	Phe	Gln

1	5	10	15
Gly			

<210> 539
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 539															
Ile	Ile	Asn	Pro	Tyr	Gly	Gly	Thr	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	
Gly															

<210> 540
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 540															
Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Gly	Arg	Tyr
1				5					10					15	
Tyr	Tyr	Gly	Leu	Asp	Val										
			20												

<210> 541
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 541															
Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Gly	Arg	Tyr
1				5					10					15	
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val										
			20												

<210> 542
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 542															
Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Ser	Arg	His
1				5					10					15	
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val										
			20												

<210> 543
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 543
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Pro Gly Pro Ala Ser Arg Gly
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 20

<210> 544
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 544
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Leu Ala Gly Pro Ala Gly Arg Tyr
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 20

<210> 545
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 545
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Leu Ala Gly Pro Ala Ser Arg Gly
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 20

<210> 546
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 546
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Leu Ala Gly Pro Ala Ser Arg Pro
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 20

<210> 547

<211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 547
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Leu Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 1 5 10 15
 Tyr Leu Gly Met Asp Val
 20

<210> 548
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 548
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Leu Ala Gly Pro Gly Ser Arg Tyr
 1 5 10 15
 Tyr Arg Gly Met Asp Val
 20

<210> 549
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 549
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Val Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 20

<210> 550
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 550
 Val Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 20

<210> 551
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 551

Thr	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Ser	Arg	Tyr
1				5					10					15	
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val										
			20												

<210> 552

<211> 21

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 552

Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Leu	Ala	Gly	Pro	Ala	Ser	Arg	Tyr
1				5					10					15	
Tyr	Gly	Met	Asp	Val											
			20												

<210> 553

<211> 22

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 553

Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Leu	Ala	Gly	Pro	Ala	Ser	Arg	Gly
1				5					10					15	
Tyr	Gln	Gly	Met	Asp	Val										
			20												

<210> 554

<211> 22

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 554

Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Leu	Ala	Phe	Pro	Ala	Ser	Arg	Tyr
1				5					10					15	
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val										
			20												

<210> 555

<211> 22

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 555

Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Ala	Arg	His
1				5					10					15	
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val										
			20												

<210> 556

<211> 22

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 556

Ala	Arg	Asp	Pro	Phe	Gly	Ile	Ala	Leu	Ala	Gly	Pro	Ala	Ser	Arg	Tyr
1				5					10					15	
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val										
			20												

<210> 557

<211> 22

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 557

Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Ala	Ala	Phe	Pro	Ala	Gly	Arg	Tyr
1				5					10					15	
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val										
			20												

<210> 558

<211> 22

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 558

Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Ala	Ala	Tyr	Pro	Ala	Ser	Arg	Tyr
1				5					10					15	
Asn	Tyr	Gly	Met	Asp	Val										
			20												

<210> 559

<211> 22

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 559

Ala	Arg	Asp	Pro	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Ser	Arg	Tyr

1	5	10	15
Tyr Tyr Gly Met Asp Val			
20			

<210> 560
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 560			
Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Ala Tyr Pro Ala Ser Arg Tyr			
1 5 10 15			
Tyr Arg Gly Met Asp Val			
20			

<210> 561
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 561			
Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Gly Leu Ala Gly Pro Phe Ser Arg Tyr			
1 5 10 15			
Tyr Tyr Gly Met Asp Val			
20			

<210> 562
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 562			
Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Leu Ala Gly Pro Ala Ser Arg Ser			
1 5 10 15			
Tyr Tyr Gly Met Asp Val			
20			

<210> 563
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 563			
Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Ala Phe Pro Ala Ser Arg Ser			
1 5 10 15			
Tyr Tyr Gly Met Asp Val			
20			

<210> 564
 <211> 22
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 564
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Leu Leu Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 1 5 10 15
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val
 20

<210> 565
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 1
 <223> Xaa = G или Y

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 4
 <223> Xaa = S, R, G или T

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 5
 <223> Xaa = S, G или N

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 8
 <223> Xaa = I или M

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 9
 <223> Xaa = S или A

<400> 565
 Xaa Thr Phe Xaa Xaa Tyr Ala Xaa Xaa
 1 5

<210> 566
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 3
 <223> Xaa = I или V

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 5
 <223> Xaa = I, R, G, A, S, T или Q

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 6
 <223> Xaa = F или G

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 8
 <223> Xaa = T, R или W

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 10
 <223> Xaa = S, N, Q или W

<400> 566
 Gly Ile Xaa Pro Xaa Xaa Gly Xaa Ala Xaa Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 567
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 567
 Gly Thr Phe Arg Ser Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 568
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 568
 Gly Thr Phe Gly Ser Tyr Ala Ile Ser
 1 5

<210> 569
 <211> 9
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 569

Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Ala Met Ala
1 5

<210> 570

<211> 9

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 570

Gly Thr Phe Arg Asn Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 571

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 571

Gly Ile Val Pro Arg Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 572

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 572

Gly Ile Ile Pro Gly Phe Gly Thr Ala Gln Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 573

<211> 17

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 573

Gly Ile Ile Pro Gly Phe Gly Thr Ala Trp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 574
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 574
 Gly Ile Ile Pro Ala Phe Gly Thr Ala Trp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 575
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 575
 Gly Ile Ile Pro Ser Phe Gly Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 576
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 576
 Gly Ile Ile Pro Thr Phe Gly Thr Ala Trp Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 577
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 577
 Gly Ile Ile Pro Gly Phe Gly Arg Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 578

<211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 578
 Gly Ile Ile Pro Gln Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 579
 <211> 17
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 579
 Gly Ile Ile Pro Ile Gly Gly Trp Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 1 5 10 15
 Gly

<210> 580
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 5
 <223> Xaa = S или G

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 8
 <223> Xaa = H или R

<400> 580
 Arg Ser Ser Gln Xaa Leu Leu Xaa Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 581
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 6

<223> Xaa = A или V

<400> 581

Leu Gly Ser Asn Arg Xaa Ser
1 5

<210> 582

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> 6

<223> Xaa = G или V

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> 7

<223> Xaa = Y или R

<400> 582

Tyr Ser Ile Ser Ser Xaa Xaa Tyr Trp Gly
1 5 10

<210> 583

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> 1

<223> Xaa = T, S или A

<220>

<221> ВАРИАНТ

<222> 4

<223> Xaa = H или P

<400> 583

Xaa Ile Tyr Xaa Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 584

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 584

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp

1	5	10	15

<210> 585
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 585
 Arg Ser Ser Gln Gly Leu Leu Arg Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
 1 5 10 15

<210> 586
 <211> 7
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 586
 Leu Gly Ser Asn Arg Val Ser
 1 5

<210> 587
 <211> 10
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 587
 Tyr Ser Ile Ser Ser Val Arg Tyr Trp Gly
 1 5 10

<210> 588
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 588
 Ala Ile Tyr Pro Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 589
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 1
 <223> Xaa = G или Y

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 4
 <223> Xaa = S, V, Y, K или P

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 6
 <223> Xaa = S или R

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 7
 <223> Xaa = D или E

<400> 589
 Xaa Ser Ile Xaa Ser Xaa Xaa Tyr Tyr Trp Gly
 1 5 10

<210> 590
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 1
 <223> Xaa = S, G, Q или L

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 4
 <223> Xaa = Y, W или R

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 5
 <223> Xaa = S, R, K или A

<220>
 <221> ВАРИАНТ
 <222> 9
 <223> Xaa = Y или V

<400> 590
 Xaa Ile Tyr Xaa Xaa Gly Ser Thr Xaa Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 591
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 591

Gly	Ser	Ile	Val	Ser	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Trp	Gly
1				5					10	

<210> 592

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 592

Gly	Ser	Ile	Tyr	Ser	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Trp	Gly
1				5					10	

<210> 593

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 593

Gly	Ser	Ile	Lys	Ser	Ser	Glu	Tyr	Tyr	Trp	Gly
1				5					10	

<210> 594

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 594

Tyr	Ser	Ile	Pro	Ser	Asp	Tyr	Tyr	Trp	Gly
1				5					10

<210> 595

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 595

Gly	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Glu	Tyr	Tyr	Trp	Gly
1				5					10	

<210> 596

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 596

Gly Ser Ile Ser Ser Arg Glu Tyr Tyr Trp Gly
1 5 10

<210> 597

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 597

Gly Ile Tyr Tyr Arg Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 598

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 598

Gln Ile Tyr Tyr Lys Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 599

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 599

Ser Ile Tyr Trp Arg Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 600

<211> 16

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 600

Ser Ile Tyr Arg Ala Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 601

<211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 601
 Ser Ile Tyr Tyr Arg Gly Ser Thr Val Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 602
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 602
 Leu Ile Tyr Tyr Arg Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 603
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 603
 Ser Ile Tyr Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
 1 5 10 15

<210> 604
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 604
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Gly Ala Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Phe Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Arg Ser Ser Gly Trp Tyr Glu Gly Tyr Gly Met Asp
 100 105 110
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 605
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 605
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Val Ala Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Ala Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Arg Ser Ser Gly Trp Tyr Glu Gly Tyr Gly Met Asp
 100 105 110
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 606
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 606
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Gly Ala Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Arg Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Arg Ser Ser Gly Trp Tyr Glu Gly Tyr Gly Met Asp
 100 105 110
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 607
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 607

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

<210> 608

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 608

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

<210> 609

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 609

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

043015

50		55		60	
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr					
65		70		75	80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys					
	85		90		95
Ala Arg Gly Lys Arg Ser Ser Gly Trp Tyr Glu Gly Tyr Gly Met Asp					
	100		105		110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser					
	115		120		

<210> 610

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 610

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

<210> 611

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 611

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

<210> 612
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 612
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
 20 25 30
 Leu Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Arg Ser Ser Gly Trp Tyr Glu Gly Tyr Gly Met Asp
 100 105 110
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 613
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 613
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ala Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Trp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Leu Pro Ser Gly Gly Arg Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Arg Ser Ser Gly Trp Tyr Glu Gly Tyr Gly Met Asp
 100 105 110
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 614
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 614

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

<210> 615

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 615

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

<210> 616

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 616

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

50		55		60											
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Gly	Lys	Arg	Ser	Ser	Gly	Trp	Tyr	Glu	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp
			100					105					110		
Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser				
		115					120								

<210> 617

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 617

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

<210> 618

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 618

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

<210> 619
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 619
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Thr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Trp Gly Gly Thr Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 620
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 620
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 621
 <211> 129
 <212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 621

```

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

```

<210> 622

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 622

```

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

```

<210> 623

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 623

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

Ser

<210> 624

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 624

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

Ser

<210> 625

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 625

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Ala	Ser	Arg
			20					25					30		

043015

```

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

```

<210> 626

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 626

```

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

```

<210> 627

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 627

```

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

```

043015

65					70					75				80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr
				85					90				95	Cys
Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Ser	Arg
			100					105					110	His
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val
		115					120					125		Ser
Ser														

<210> 628

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 628

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

<210> 629

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 629

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

043015

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 630
 <211> 107
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 630
 Glu Val Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Arg Leu Gly Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 631
 <211> 129
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 631
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Arg
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Val Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Pro Gly Pro Ala Ser Arg Gly
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 632
 <211> 129
 <212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 632

```

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

```

<210> 633

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 633

```

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

```

<210> 634

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 634

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

Ser

<210> 635

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 635

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

Ser

<210> 636

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 636

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Arg
			20					25					30		

043015

```

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

```

<210> 637

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 637

```

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

```

<210> 638

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 638

```

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

```

043015

65					70					75				80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr
				85					90				95	Cys
Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Ser	Arg
			100					105					110	Tyr
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val
		115					120					125		Ser
Ser														

<210> 639

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 639

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

<210> 640

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 640

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

043015

Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 641
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 641
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ile Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 642
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 642
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ile Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Val Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 643
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 643
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ile Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Arg Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 644
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 644
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ile Gly Gly Ser Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Ala Gly Pro Ala Gly Arg Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 645
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 645

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

Ser

<210> 646

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 646

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

Ser

<210> 647

<211> 128

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 647

043015

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

<210> 648

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 648

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

Ser

<210> 649

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 649

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

50						55						60					
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr		
65					70					75					80		
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
				85					90					95			
Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Leu	Ala	Phe	Pro	Ala	Ser	Arg	Tyr		
			100					105					110				
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser		
		115					120					125					
Ser																	

<210> 650

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 650

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

<210> 651

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 651

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

Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Ala Gly Pro Ala Ala Arg His
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 652

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 652

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

<210> 653

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 653

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

<210> 654
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 654
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ile Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Arg Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Gly Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Tyr Pro Ala Ser Arg Tyr
 100 105 110
 Asn Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 655
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 655
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ile Gly Gly Ser Ile Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 656
 <211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 656

```

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

```

<210> 657

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 657

```

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

```

<210> 658

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 658

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

<210> 659

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 659

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

<210> 660

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 660

Gln Val Arg Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Arg Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Lys Tyr

043015

[illegible]

<210>	661
<211>	129
<212>	ПРТ
<213>	Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 661															
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Lys	Tyr
			20					25					30		
Tyr	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
			35				40					45			
Gly	Ile	Ile	Asn	Pro	Ile	Gly	Gly	Ser	Thr	Ser	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Val	Tyr
65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Asp	Pro	Ser	Gly	Ile	Ala	Leu	Leu	Gly	Pro	Ala	Ser	Arg	Tyr
			100					105					110		
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser
		115					120					125			
Ser															

<210>	662
<211>	129
<212>	ПРТ
<213>	Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 662

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Gly Pro Ala Gly Arg Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 663
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 663
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Thr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Val Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 664
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 664
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Leu
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Val Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr

043015

			100					105					110				
Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser		
		115					120					125					
Ser																	

<210> 665

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 665

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

<210> 666

<211> 129

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 666

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

<210> 667
 <211> 107
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 667
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Arg Leu Gly Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 668
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 668
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Gln
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Ile Asn Pro Val Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Pro Ser Gly Ile Ala Ala Ala Gly Pro Ala Ser Arg Tyr
 100 105 110
 Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser

<210> 669
 <211> 129
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 669

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

<210> 670

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 670

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

<210> 671

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 671

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

		35					40					45						
Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Gly	Phe	Gly	Thr	Ala	Gln	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe			
	50					55					60							
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr			
65					70					75					80			
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
				85					90					95				
Ala	Arg	Gln	Gly	Arg	Lys	Thr	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp			
			100					105					110					
Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser							
		115					120											

 $\langle 211 \rangle$ 124

<213> ИСК

<223>

Gln Val G

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

$\langle 211 \rangle$ 124

<213> ИСК

 $\langle 223 \rangle$

Gln Val G

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

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 674
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 674
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Ser Phe Gly Thr Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gln Gly Arg Lys Thr Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 675
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 675
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Thr Phe Gly Thr Ala Trp Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gln Gly Arg Lys Thr Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
 100 105 110
 Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 676
 <211> 124
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 676

```

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

```

<210> 677

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 677

```

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

```

<210> 678

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 678

```

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

```

043015

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

<210>	679
<211>	122
<212>	ПРТ
<213>	Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 679															
Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Ser	Gly	Tyr	Ser	Ile	Ser	Ser	Val
			20					25					30		
Arg	Tyr	Trp	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
		35					40					45			
Ile	Gly	Ser	Ile	Tyr	His	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu
	50					55					60				
Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser
65					70					75				80	
Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Gln	Gly	Ser	Ile	Lys	Gln	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val	Trp
			100					105					110		
Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
		115					120								

<210>	680
<211>	122
<212>	ПРТ
<213>	Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 680															
Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Ser	Gly	Tyr	Ser	Ile	Ser	Ser	Val
			20					25					30		
Arg	Tyr	Trp	Gly	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
		35					40					45			
Ile	Gly	Ala	Ile	Tyr	Pro	Ser	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Pro	Ser	Leu
	50					55					60				
Lys	Ser	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Val	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Gln	Phe	Ser
65					70					75					80
Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Gln	Gly	Ser	Ile	Lys	Gln	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Val	Trp
			100					105					110		

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 681
<211> 112
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 681
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Arg Ser
20 25 30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Val Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
85 90 95
Gln Glu Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 682
<211> 112
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 682
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Ser Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Gly Leu Leu Arg Ser
20 25 30
Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gln
85 90 95
Gln Glu Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 683
<211> 112
<212> ПРТ
<213> Искусственная последовательность

<220>
<223> Синтетическая конструкция

<400> 683

043015

```

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

```

<210> 684

<211> 112

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 684

```

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

```

<210> 685

<211> 125

<212> PPT

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 685

```

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

```

			100					105					110
Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	
			115				120					125	

<210> 686
 <211> 125
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 686

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

<210> 687
 <211> 125
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 687

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

<210> 688
 <211> 125
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 688

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

<210> 689

<211> 125

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 689

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

<210> 690

<211> 124

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 690

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Lys	Pro	Ser	Glu
1				5					10					15	
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Ala	Val	Ser	Gly	Tyr	Ser	Ile	Pro	Ser	Asp
			20					25					30		

```

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
      35              40              45
Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Arg Gly Ser Thr Val Tyr Asn Pro Ser Leu
      50              55              60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65      70              75              80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85              90              95
Ala Arg Gly Val Gly Ser Gly Tyr Ser Tyr Gly Tyr Arg Tyr Phe Asp
      100              105              110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115              120

```

<210> 691
 <211> 125
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

```

<400> 691
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1      5              10              15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
      20              25              30
Glu Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
      35              40              45
Trp Ile Gly Leu Ile Tyr Tyr Arg Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50      55              60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65      70              75              80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
      85              90              95
Cys Ala Arg Gly Val Gly Ser Gly Tyr Ser Tyr Gly Tyr Arg Tyr Phe
      100              105              110
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115              120              125

```

<210> 692
 <211> 125
 <212> PPT
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

```

<400> 692
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1      5              10              15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Arg
      20              25              30
Glu Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
      35              40              45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Arg Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50      55              60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65      70              75              80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
      85              90              95
Cys Ala Arg Gly Val Gly Ser Gly Tyr Ser Tyr Gly Tyr Arg Tyr Phe

```

043015

		100					105				110	
Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
		115					120				125	

<210> 693
 <211> 24
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 693															
Thr	Lys	Cys	Leu	Arg	Arg	Glu	Ala	Pro	Arg	Trp	Asp	Ala	Pro	Leu	Arg
1				5					10					15	
Asp	Pro	Ala	Leu	Arg	Gln	Leu	Leu								
			20												

<210> 694
 <211> 8
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 694									
Ser	Ser	Asp	Phe	Ala	Lys	Asn	Phe		
1				5					

<210> 695
 <211> 41
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 695															
Gly	Gly	Thr	Ala	Thr	Thr	Gly	Ala	Gly	Gly	Gly	Thr	Cys	Gly	Cys	Gly
1				5					10					15	
Ala	Ala	Cys	Cys	Ala	Cys	Ala	Cys	Thr	Cys	Ala	Gly	Ala	Gly	Ala	Gly
			20					25					30		
Cys	Ala	Ala	Thr	Gly	Thr	Cys	Cys	Cys							
			35				40								

<210> 696
 <211> 52
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 696															
Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Ala	Gly	Thr	Thr	Gly	Thr	Cys	Cys	Thr	Gly
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Gly	Thr	Cys	Cys	Thr	Cys	Gly	Thr	Thr	Cys	Gly	Cys	Cys
			20					25					30		

043015

Ala Cys Thr Cys Cys Gly Ala Gly Ala Thr Thr Gly Ala Gly Ala Gly
 35 40 45
 Gly Ala Gly Ala
 50

<210> 697
 <211> 44
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 697
 Gly Gly Thr Ala Thr Thr Gly Ala Gly Gly Gly Thr Cys Gly Cys Gly
 1 5 10 15
 Cys Cys Cys Cys Cys Ala Thr Gly Ala Ala Ala Gly Ala Ala Gly Cys
 20 25 30
 Ala Ala Ala Cys Ala Thr Cys Cys Gly Ala Gly Gly
 35 40

<210> 698
 <211> 49
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 698
 Cys Ala Cys Gly Thr Thr Thr Gly Thr Ala Cys Ala Gly Gly Thr Ala
 1 5 10 15
 Cys Thr Cys Cys Cys Ala Gly Gly Cys Cys Gly Cys Gly Ala Cys Thr
 20 25 30
 Cys Cys Gly Ala Gly Ala Thr Thr Gly Ala Gly Ala Gly Gly Ala Gly
 35 40 45
 Ala

<210> 699
 <211> 21
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 699
 Lys Thr Ile Gly Val Lys Ile Tyr Ser Phe Gly Leu Gly Gly Arg Phe
 1 5 10 15
 Leu Phe Ala Ser Val
 20

<210> 700
 <211> 11
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 700

Asn Gly Leu Trp Val Ser Lys Asn Phe Gly Gly
1 5 10

<210> 701

<211> 25

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 701

Phe Ala Ser Val Met Ala Asp Lys Asp Thr Thr Arg Arg Ile His Val
1 5 10 15
Ser Thr Asp Gln Gly Asp Thr Trp Ser
20 25

<210> 702

<211> 21

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 702

Phe Val Gln Thr Asp Leu Pro Phe His Pro Leu Thr Gln Met Met Tyr
1 5 10 15
Ser Pro Gln Asn Ser
20

<210> 703

<211> 24

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 703

Asn Gly Leu Trp Val Ser Lys Asn Phe Gly Gly Lys Trp Glu Glu Ile
1 5 10 15
His Lys Ala Val Cys Leu Ala Lys
20

<210> 704

<211> 25

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 704

Phe Val Gln Thr Asp Leu Pro Phe His Pro Leu Thr Gln Met Met Tyr
1 5 10 15

Ser Pro Gln Asn Ser Asp Tyr Leu Leu
 20 25

<210> 705
 <211> 25
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 705
 Glu Pro Gly Asp Thr Gly Phe Gly Thr Ile Phe Thr Ser Asp Asp Arg
 1 5 10 15
 Gly Ile Val Tyr Ser Lys Ser Leu Asp
 20 25

<210> 706
 <211> 16
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 706
 His Val Pro Leu Val Ile Met Thr Gln Val Pro Leu Val Ile Val Ser
 1 5 10 15

<210> 707
 <211> 21
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 707
 Met Glu Val Gly Trp Tyr Arg Ser Pro Phe Ser Arg Val Val His Leu
 1 5 10 15
 Tyr Arg Asn Gly Lys
 20

<210> 708
 <211> 10
 <212> ПРТ
 <213> Искусственная последовательность

<220>
 <223> Синтетическая конструкция

<400> 708
 His Ser Thr Asp Pro Glu Asp Tyr Glu Asp
 1 5 10

<210> 709
 <211> 15
 <212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 709

Ile	Thr	Phe	Asp	Gln	Gly	Gly	Arg	Trp	Thr	His	Leu	Arg	Lys	Pro
1				5					10					15

<210> 710

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 710

Cys	Thr	Ser	Asn	Phe	Leu	Ser	Pro	Glu	Lys
1				5					10

<210> 711

<211> 11

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 711

Leu	Ser	Thr	Glu	Asn	Gly	Leu	Trp	Val	Ser	Lys
1				5						10

<210> 712

<211> 7

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 712

Gly	Pro	Glu	Asn	Ser	Gly	Lys
1				5		

<210> 713

<211> 10

<212> ПРТ

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Синтетическая конструкция

<400> 713

Leu	Pro	Phe	His	Pro	Leu	Thr	Gln	Met	Met
1				5					10

<210> 714

<211> 678
 <212> IPT
 <213> Homo sapien

<400> 714

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


```

Arg Pro Ile Asn Val Ile Lys Phe Ser Thr Asp Glu Gly Gln Cys Trp
465                               470                               475                               480
Gln Thr Tyr Thr Phe Thr Arg Asp Pro Ile Tyr Phe Thr Gly Leu Ala
                               485                               490                               495
Ser Glu Pro Gly Ala Arg Ser Met Asn Ile Ser Ile Trp Gly Phe Thr
                               500                               505                               510
Glu Ser Phe Leu Thr Ser Gln Trp Val Ser Tyr Thr Ile Asp Phe Lys
                               515                               520                               525
Asp Ile Leu Glu Arg Asn Cys Glu Glu Lys Asp Tyr Thr Ile Trp Leu
                               530                               535                               540
Ala His Ser Thr Asp Pro Glu Asp Tyr Glu Asp Gly Cys Ile Leu Gly
545                               550                               555                               560
Tyr Lys Glu Gln Phe Leu Arg Leu Arg Lys Ser Ser Val Cys Gln Asn
                               565                               570                               575
Gly Arg Asp Tyr Val Val Thr Lys Gln Pro Ser Ile Cys Leu Cys Ser
                               580                               585                               590
Leu Glu Asp Phe Leu Cys Asp Phe Gly Tyr Tyr Arg Pro Glu Asn Asp
                               595                               600                               605
Ser Lys Cys Val Glu Gln Pro Glu Leu Lys Gly His Asp Leu Glu Phe
                               610                               615                               620
Cys Leu Tyr Gly Arg Glu Glu His Leu Thr Thr Asn Gly Tyr Arg Lys
625                               630                               635                               640
Ile Pro Gly Asp Lys Cys Gln Gly Gly Val Asn Pro Val Arg Glu Val
                               645                               650                               655
Lys Asp Leu Lys Lys Cys Thr Ser Asn Phe Leu Ser Pro Glu Lys
                               660                               665                               670
Gln Asn Ser Lys Ser Asn
                               675

```

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Выделенное антитело против сортилина, которое связывается с сортилином человека, где антитело против сортилина получено с использованием эпитопа, содержащего:

(i) аминокислотные остатки 237-247 последовательности SEQ ID NO: 1 или аминокислотные остатки белка сортилина млекопитающего, соответствующие аминокислотным остаткам 237-247 последовательности SEQ ID NO: 1; или

(ii) аминокислотные остатки 314-338 последовательности SEQ ID NO: 1 или аминокислотные остатки белка сортилина млекопитающего, соответствующие аминокислотным остаткам 314-338 последовательности SEQ ID NO: 1.

2. Антитело против сортилина по п.1, где антитело против сортилина повышает внеклеточные уровни програнулина и снижает клеточные уровни сортилина, где снижение клеточных уровней сортилина представляет собой снижение уровней сортилина на клеточной поверхности, снижение внутриклеточных уровней сортилина, снижение общих уровней сортилина или любую их комбинацию.

3. Антитело против сортилина по п.1 или 2, где антитело против сортилина индуцирует деградацию сортилина, расщепление сортилина, интернализацию сортилина, снижение регуляции сортилина или любую их комбинацию.

4. Антитело против сортилина по любому из пп.1-3, где антитело против сортилина ингибирует взаимодействие между сортилином и одним или несколькими белками благодаря а) снижению эффективных уровней сортилина, доступных для взаимодействия с одним или несколькими белками; б) индукции деградации сортилина; или обоим этим эффектам.

5. Антитело против сортилина по п.4, где антитело против сортилина дополнительно ингибирует взаимодействие между сортилином и предшественником фактора роста нервов (pro-NGF).

6. Антитело против сортилина по любому из пп.1-5, где антитело против сортилина связывается с сортилином человека с константой диссоциации (K_D), значение которой находится в диапазоне от около 0,005 до около 100 нМ.

7. Антитело против сортилина по любому из пп.1-6, где антитело против сортилина также связывается с сортилином мыши.

8. Антитело против сортилина по п.7, где антитело против сортилина связывается с сортилином мыши с константой диссоциации (K_D) в диапазоне от около 0,005 до около 100 нМ.

9. Антитело против сортилина по любому из пп.1-8, где антитело против сортилина представляет собой антитело человека, гуманизированное антитело, моноклональное антитело или химерное антитело.

10. Конъюгат антитела против сортилина по любому из пп.1-9, где антитело против сортилина конъюгировано с цитотоксичным агентом.

11. Биспецифическое антитело, содержащее антитело против сортилина по любому из пп.1-9, где биспецифическое антитело связывается с сортилином человека и вторым антигеном, где второй антиген является антигеном, облегчающим транспорт через гематоэнцефалический барьер.

12. Поливалентное антитело, содержащее антитело против сортилина по любому из пп.1-9, где поливалентное антитело связывается с сортилином человека и вторым антигеном, где второй антиген является антигеном, облегчающим транспорт через гематоэнцефалический барьер.

13. Биспецифическое антитело по п.11 или поливалентное антитело по п.12, где второй антиген выбирают из группы, состоящей из рецептора трансферрина (TR), инсулинового рецептора (HIR), рецептора инсулиноподобного фактора роста (IGFR), белков 1 и 2 подобных рецептору липопотеинов низкой плотности (LPR-1 и 2), рецептора дифтерийного токсина, CRM197, TMEM 30(A), белкового домена трансдукции, TAT, Syn-B, пенетратина, полиаргининового пептида, пептида ангиопеп и ANG1005.

14. Фрагмент антитела, который связывается с сортилином человека, где фрагмент антитела представляет собой фрагмент против сортилина по любому из пп.1-9, конъюгата по п.10, биспецифического антитела по п.11 или 13 или поливалентного антитела по п.12 или 13.

15. Фрагмент антитела по п.14, где фрагмент представляет собой Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv или scFv-фрагмент.

16. Антитело против сортилина по любому из пп.1-9, конъюгат по п.10, биспецифическое антитело по п.11 или 13, поливалентное антитело по п.12 или 13 или фрагмент антитела по п.14 или 15, где антитело против сортилина, конъюгат, биспецифическое антитело, поливалентное антитело или фрагмент антитела:

- (a) индуцирует одну или более активностей програнулина;
- (b) снижает эндосомальную интернализацию програнулина или его фрагментов; и
- (c) увеличивает эффективную концентрацию програнулина.

17. Антитело против сортилина по любому из пп.1-9 и 16, конъюгат по п.10 или 16, биспецифическое антитело по любому из пп.11, 13 и 16, поливалентное антитело по любому из пп.12-13 и 16 или фрагмент антитела по любому из пп.14-16, где антитело против сортилина, конъюгат, биспецифическое антитело, поливалентное антитело или фрагмент антитела ингибирует взаимодействие между сортилином, экспрессируемым на клетке, и програнулином.

18. Антитело против сортилина или фрагмент антитела, которое специфически связывается с сортилином человека и сортилином мыши, где антитело против сортилина или фрагмент антитела содержит переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, где:

- (a) переменная область легкой цепи содержит:

HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9,
HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, и
HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, и
переменная область тяжелой цепи содержит:

HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 520,
HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 533, и
HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 553; или

(b) переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 343 и

переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 648.

19. Антитело против сортилина или фрагмент антитела, которое связывается с сортилином человека и сортилином мыши, где антитело против сортилина или фрагмент антитела содержит переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, где:

- (a) переменная область легкой цепи содержит:

HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9,
HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, и
HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, и
переменная область тяжелой цепи содержит:

HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129,
HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и
HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 190; или

(b) переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 343, и

переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 342.

20. Антитело против сортилина по любому из пп.1-9 и 16, 17, конъюгат по любому из пп.10 и 16, 17, биспецифическое антитело по любому из пп.11, 13 и 16, 17, поливалентное антитело по любому из пп.12-13 и 16, 17 или фрагмент антитела по любому из пп.14-17, где антитело против сортилина, конъюгат, биспецифическое антитело, поливалентное антитело или фрагмент антитела конкурирует с рефе-

ренсным антителом против сортилина за связывание с сортилином человека и/или сортилином мыши, где референсное антитело против сортилина содержит переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, где:

(а) переменная область легкой цепи референсного антитела против сортилина содержит:

HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9,

HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, и

HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, и

переменная область тяжелой цепи референсного антитела против сортилина содержит:

HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129,

HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и

HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 190; или

(б) переменная область легкой цепи референсного антитела против сортилина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 343 и

переменная область тяжелой цепи референсного антитела против сортилина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 342.

21. Антитело против сортилина по любому из пп.1-9, 16-17 и 20, конъюгат по любому из пп.10, 16-17 и 20, биспецифическое антитело по любому из пп.11, 13, 16-17 и 20, поливалентное антитело по любому из пп.12-13, 16-17 и 20 или фрагмент антитела по любому из пп.14-17 и 20, где антитело против сортилина, конъюгат, биспецифическое антитело, поливалентное антитело или фрагмент антитела связывается с тем же эпитоп сортилина человека или мыши, что и референсное антитело против сортилина, где референсное антитело против сортилина содержит переменную область легкой цепи и переменную область тяжелой цепи, где:

(а) переменная область легкой цепи референсного антитела против сортилина содержит:

HVR-L1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9,

HVR-L2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29, и

HVR-L3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55, и

переменная область тяжелой цепи референсного антитела против сортилина содержит:

HVR-H1, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 129,

HVR-H2, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 155, и

HVR-H3, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 190; или

(б) переменная область легкой цепи референсного антитела против сортилина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 343 и

переменная область тяжелой цепи референсного антитела против сортилина содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 342.

22. Антитело против сортилина по любому из пп.1-9 и 16-21, конъюгат по любому из пп.10, 16-17, 20 и 21, биспецифическое антитело по любому из пп.11, 13, 16-17, 20 и 21, поливалентное антитело по любому из пп.12-13, 16-17, 20 и 21 или фрагмент антитела по любому из пп.14-21, где антитело против сортилина, конъюгат, биспецифическое антитело, поливалентное антитело или фрагмент антитела имеет изотип IgG1 или IgG4.

23. Антитело против сортилина, конъюгат, биспецифическое антитело, поливалентное антитело или фрагмент антитела по п.22, включающее:

(а) изотип IgG1 человека и одну или более аминокислотных замен в Fc-участке в положении остатков, выбранных из группы, состоящей из: N297A, N297Q, D265A, L234A, L235A, C226S, C229S, P238S, E233P, L234V, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, L234F, L235E, P331S, T394D, A330L, M252Y, S254T, T256E, и их любой комбинации, где нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU;

(б) изотип IgG4 человека и содержит одну или более аминокислотных замен в Fc-участке в положении остатков, выбранных из группы, состоящей из: E233P, F234V, L234A/F234A, L235A, G237A, E318A, S228P, L236E, S241P, L248E, T394D, M252Y, S254T, T256E, N297A, N297Q, и их любой комбинации, где нумерация остатков представлена в соответствии с нумерацией EU.

24. Антитело против сортилина, конъюгат, биспецифическое антитело, поливалентное антитело или фрагмент антитела по п.23, где:

(а) Fc-область IgG1 дополнительно содержит одну или несколько дополнительных аминокислотных замен в положении, выбранном из группы, состоящей из A330L, L234F, L235E, P331S и любой их комбинации, где нумерация остатков соответствует нумерации EU;

(б) Fc-область IgG1 или IgG4 дополнительно содержит одну или несколько дополнительных аминокислотных замен в положении, выбранном из группы, состоящей из M252Y, S254T, T256E и любой их комбинации, где нумерация остатков соответствует нумерации EU; или

(с) Fc-область IgG4 дополнительно содержит аминокислотную замену S228P в соответствии с нумерацией EU.

25. Антитело против сортилина, конъюгат, биспецифическое антитело, поливалентное антитело или фрагмент антитела по п.24, содержащее изотип IgG1 человека и аминокислотную замену в положениях

остатков L234A, L235A и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU.

26. Антитело против сортилина или фрагмент антитела по п.18, где антитело против сортилина или фрагмент антитела:

(i) содержит вариабельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 343, и

вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 648; и

(ii) имеет изотип IgG1 человека.

27. Антитело против сортилина или фрагмент антитела по п.26, где антитело против сортилина или фрагмент антитела содержит аминокислотную замену в положениях остатков L234A, L235A и P331S, где нумерация положения остатка соответствует нумерации EU.

28. Выделенная нуклеиновая кислота, которая кодирует связывающийся с сортилином агент, где нуклеиновая кислота содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую антитело против сортилина по любому из пп.1-9 и 16-27, конъюгат по любому из пп.10, 16-17 и 20-25, биспецифическое антитело по любому из пп.11, 13, 16-17 и 20-25, поливалентное антитело по любому из пп.12-13, 16-17 и 20-25 или фрагмент антитела по любому из пп.14-27.

29. Вектор экспрессии, содержащий нуклеиновую кислоту по п.28.

30. Выделенная клетка-хозяин, содержащая вектор экспрессии по п.29.

31. Способ получения антитела против сортилина или фрагмента антитела, включающий культивирование клетки-хозяина по п.30, сопровождающееся продукцией антитела против сортилина или фрагмента антитела.

32. Способ по п.31, где способ дополнительно включает выделение антитела против сортилина или фрагмента антитела, продуцируемого клеткой-хозяином.

33. Выделенное антитело против сортилина или фрагмент антитела, продуцируемое способом по п.31 или 32.

34. Фармацевтическая композиция, содержащая антитело против сортилина по любому из пп.1-9 и 16-27, конъюгат по любому из пп.10, 16-17 и 20-25, биспецифическое антитело по любому из пп.11, 13, 16-17 и 20-25, поливалентное антитело по любому из пп.12-13, 16-17 и 20-25 или фрагмент антитела по любому из пп.14-27 и фармацевтически приемлемый носитель, для предотвращения, снижения риска или лечения индивида, имеющего заболевание, нарушение или поражение, связанное с активностью сортилина или дефицитом програнулина.

35. Фармацевтическая композиция по п.34, где заболевание, нарушение или поражение, связанное с активностью сортилина или дефицитом програнулина, выбраны из группы, состоящей из лобно-височной деменции, прогрессирующего супрануклеарного паралича, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, бокового амиотрофического склероза, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, деменции, инсульта, болезни Паркинсона, острого рассеянного энцефаломиелита, дегенерации сетчатки, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, рассеянного склероза, септического шока, бактериальной инфекции, артрита и остеоартрита.

36. Способ увеличения внеклеточных уровней програнулина, уменьшающее клеточные уровни сортилина в одной или более клеток и/или уменьшающее экспрессию одного или более провоспалительных медиаторов в одной или нескольких клетках, включающий приведение в контакт одной или более клеток с антителом против сортилина по любому из пп.1-9 и 16-27, конъюгатом по любому из пп.10, 16-17 и 20-25, биспецифическим антителом по любому из пп.11, 13, 16-17 и 20-25, поливалентным антителом по любому из пп.12-13, 16-17 и 20-25 или фрагментом антитела по любому из пп.14-27.

37. Способ по п.36, где один или более провоспалительных медиаторов выбраны из группы, состоящей из IL-6, IL12p70, IL12p40, IL-1p, TNF- α , CXCL1, CCL2, CCL3, CCL4 и CCL5.

38. Способ предотвращения, снижения риска или лечения индивида, имеющего заболевание, нарушение или поражение, связанное с активностью сортилина или дефицитом програнулина, включающий введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по любому из пп.1-9 и 16-27, конъюгата по любому из пп.10, 16-17 и 20-25, биспецифического антитела по любому из пп.11, 13, 16-17 и 20-25, поливалентного антитела по любому из пп.12-13, 16-17 и 20-25 или фрагмента антитела по любому из пп.14-27.

39. Способ по п.38, где заболевание, нарушение или повреждение, связанные с активностью сортилина или дефицитом програнулина выбраны из группы, состоящей из лобно-височной деменции, прогрессирующего супрануклеарного паралича, болезни Альцгеймера, сосудистой деменции, эпилептических припадков, дистрофии сетчатки, бокового амиотрофического склероза, травматического повреждения головного мозга, повреждения спинного мозга, деменции, инсульта, болезни Паркинсона, острого рассеянного энцефаломиелита, дегенерации сетчатки, возрастной макулярной дегенерации, глаукомы, рассеянного склероза, септического шока, бактериальной инфекции, артрита и остеоартрита.

40. Способ предотвращения, снижения риска или лечения лобно-височной деменции у индивида, включающий введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина

по любому из пп.1-9 и 16-27, конъюгата по любому из пп.10, 16-17 и 20-25, биспецифического антитела по любому из пп.11, 13, 16-17 и 20-25, поливалентного антитела по любому из пп.12-13, 16-17 и 20-25 или фрагмента антитела по любому из пп.14-27.

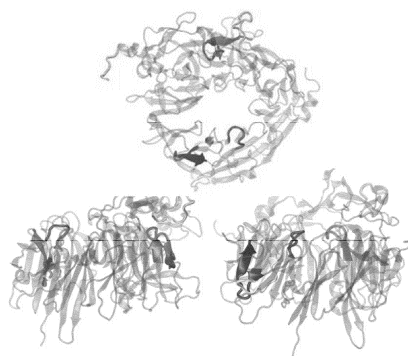
41. Способ предотвращения, снижения риска или лечения болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона или бокового амиотрофического склероза у нуждающегося в этом индивида, включающий введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по любому из пп.1-9 и 16-27, конъюгата по любому из пп.10, 16-17 и 20-25, биспецифического антитела по любому из пп.11, 13, 16-17 и 20-25, поливалентного антитела по любому из пп.12-13, 16-17 и 20-25 или фрагмента антитела по любому из пп.14-27.

42. Способ ингибирования одного или более из состояний, связанных с взаимодействием между сортилином и одним или несколькими лигандами сортилина у индивида, нуждающегося в этом, включающий введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по любому из пп.1-9 и 16-27, конъюгата по любому из пп.10, 16-17 и 20-25, биспецифического антитела по любому из пп.11, 13, 16-17 и 20-25, поливалентного антитела по любому из пп.12-13, 16-17 и 20-25 или фрагмента антитела по любому из пп.14-27.

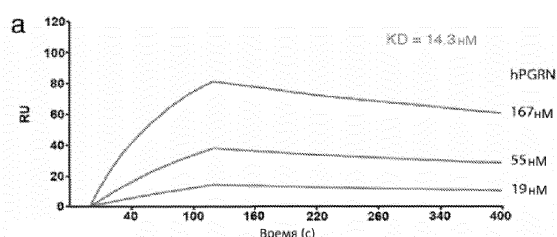
43. Способ по п.42, где одно или несколько состояний, связанных с взаимодействием между сортилином и одним или несколькими лигандами сортилина, представляют собой нейровоспаления, аксонопатии, характеризующейся коротким аксональным отростком и аномальным разветвлением, патологической микроглиальной активации и воспалительного ответа.

44. Способ стимулирования одной или более активностей, связанных с активностью програнулина или сортилина, или связанных с взаимодействием между сортилином и одним или несколькими лигандами сортилина у индивида, нуждающегося в этом, включающий введение индивиду терапевтически эффективного количества антитела против сортилина по любому из пп.1-9 и 16-27, конъюгата по любому из пп.10, 16-17 и 20-25, биспецифического антитела по любому из пп.11, 13, 16-17 и 20-25, поливалентного антитела по любому из пп.12-13, 16-17 и 20-25 или фрагмента антитела по любому из пп.14-27.

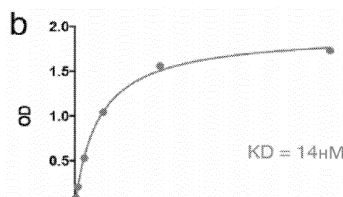
45. Способ по п.44, где одна или более активностей, связанных с активностью програнулина или сортилина, или связанных с взаимодействием между сортилином и одним или несколькими лигандами сортилина, представляет собой заживление ран, аутофагию и выведение агрегатов белков.



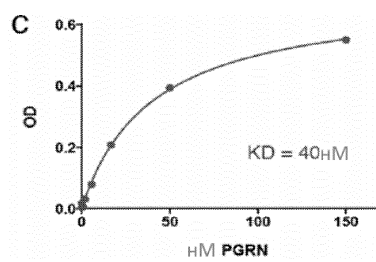
Фиг. 1



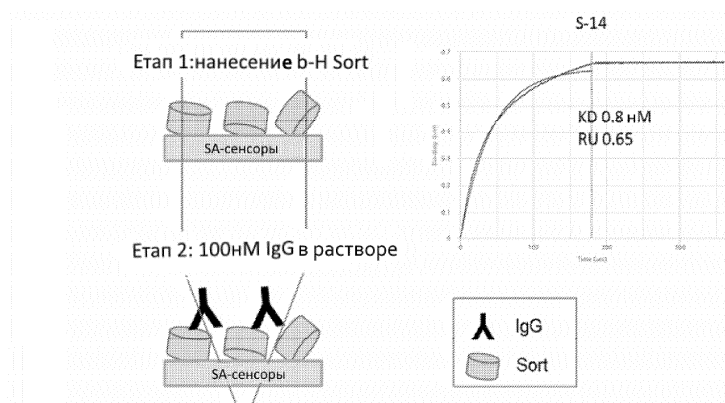
Фиг. 2A



Фиг. 2B

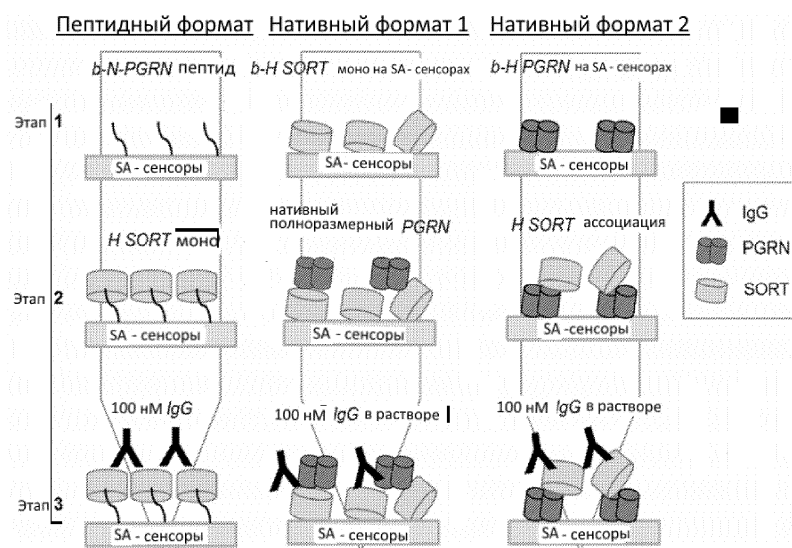


Фиг. 2С

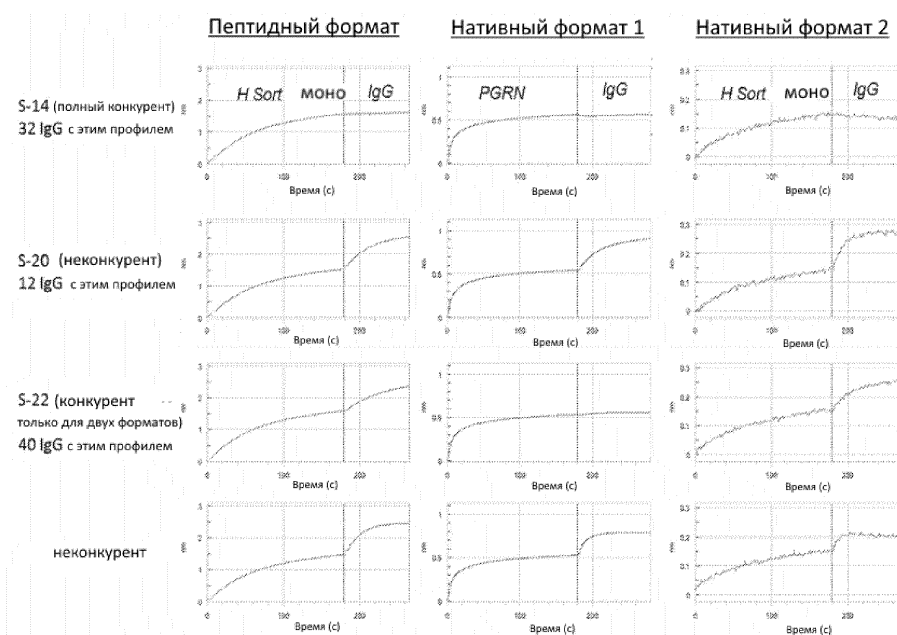


Авидин. связывание IgG с биотинилированным (b) сортолином человека (H) на сенсорном чипе Forte Bio

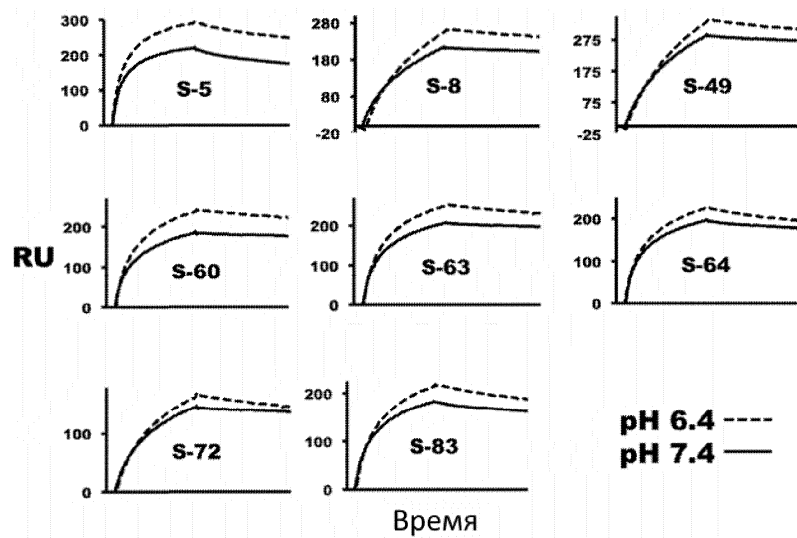
Фиг. 3А



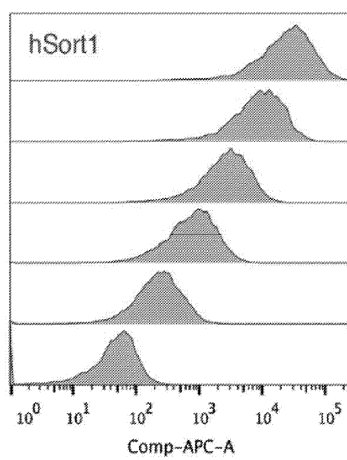
Фиг. 3В



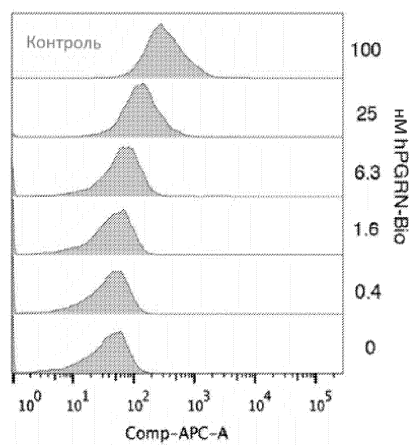
Фиг. 4А



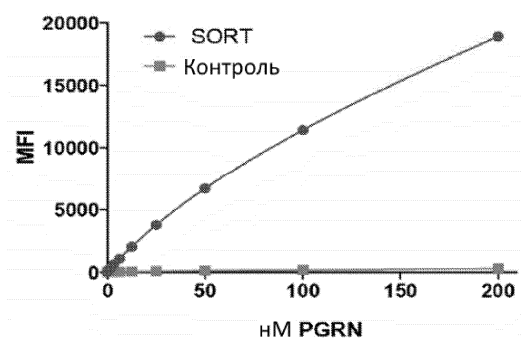
Фиг. 4В



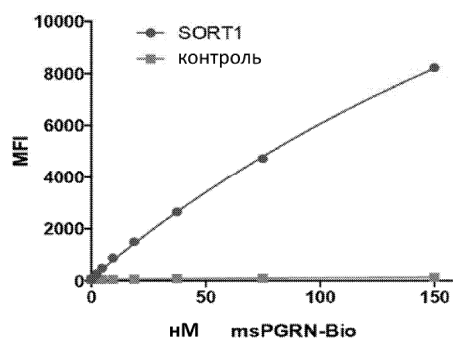
Фиг. 5А



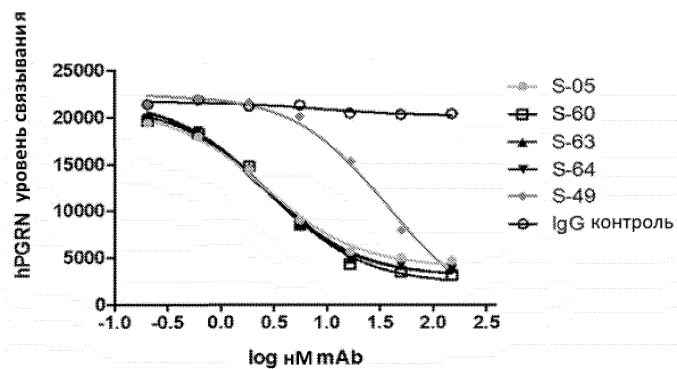
Фиг. 5B



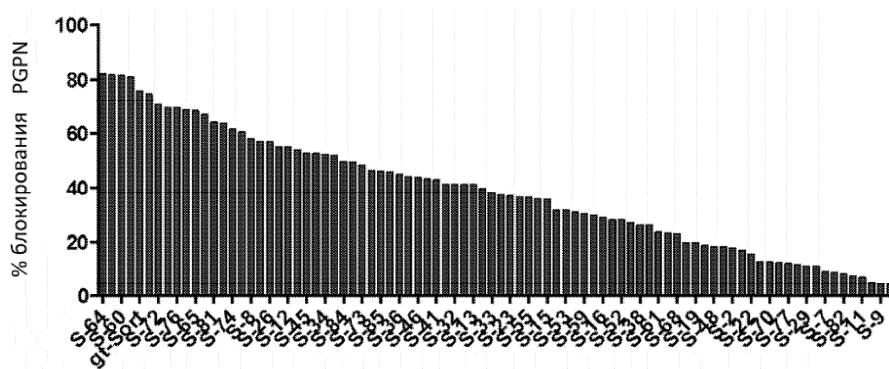
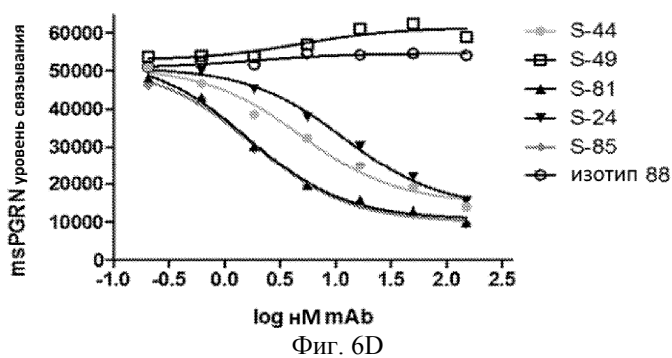
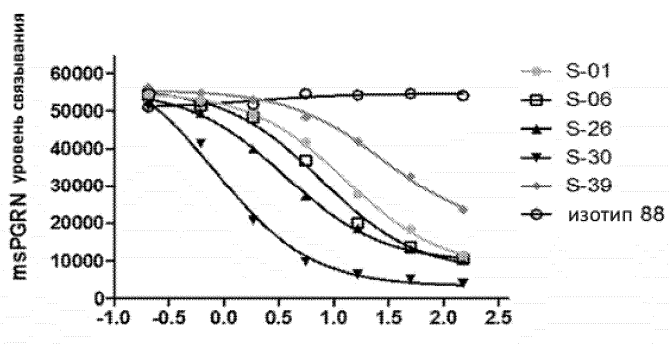
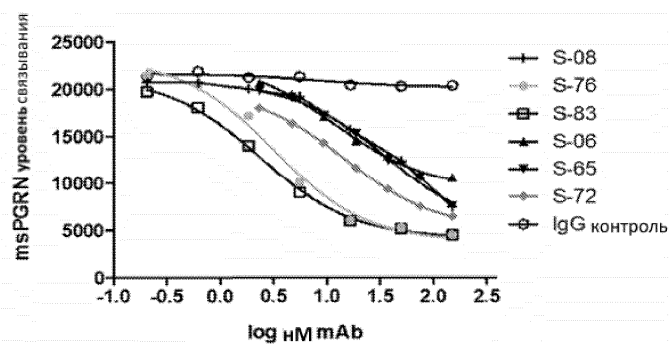
Фиг. 5C

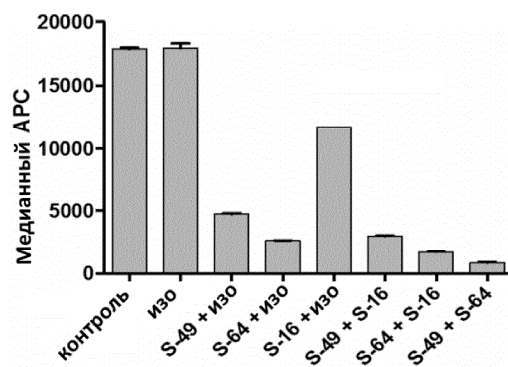


Фиг. 5D

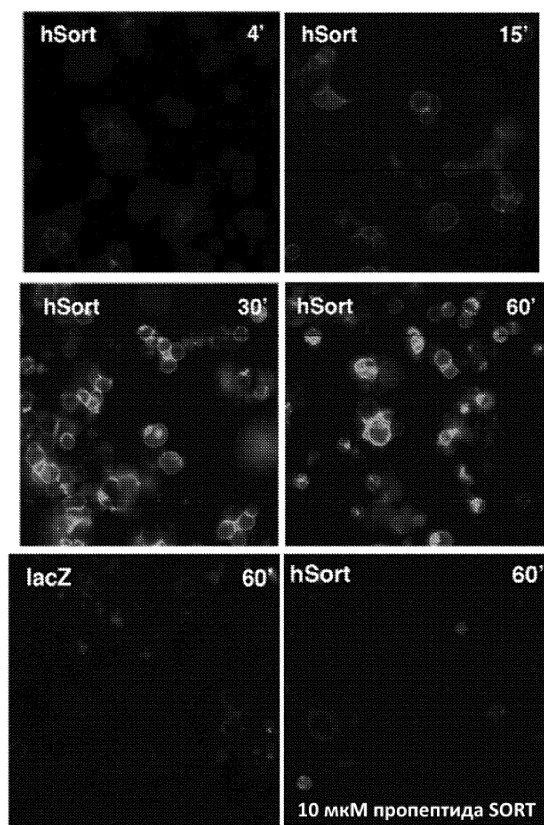


Фиг. 6A

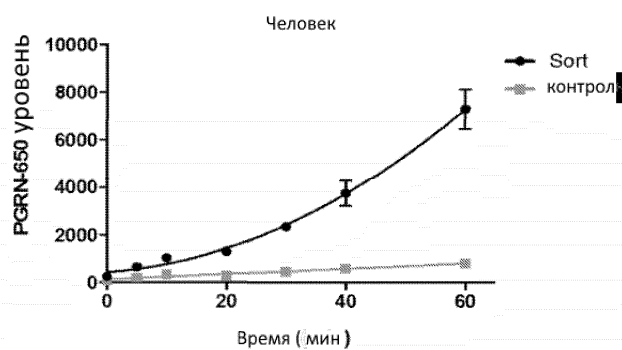




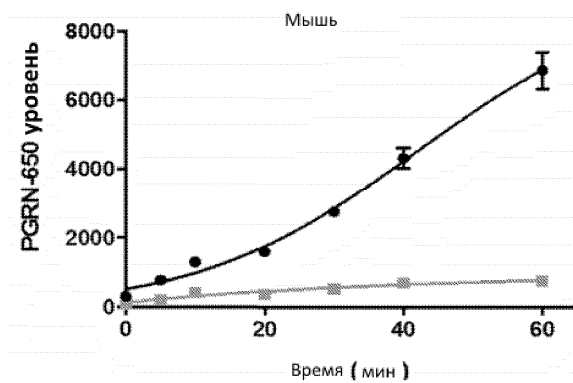
Фиг. 7



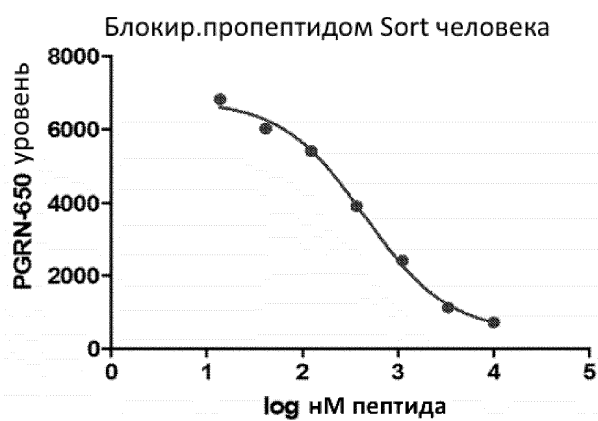
Фиг. 8А



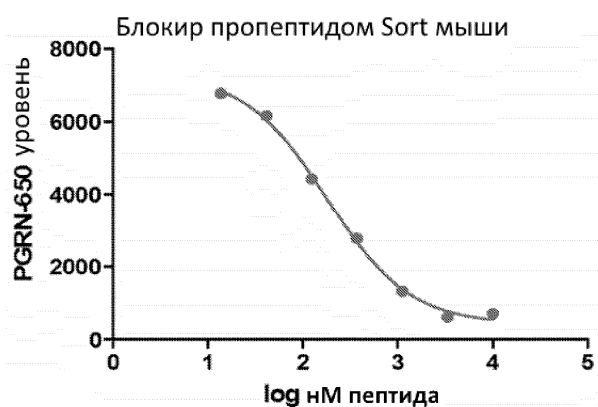
Фиг. 8В



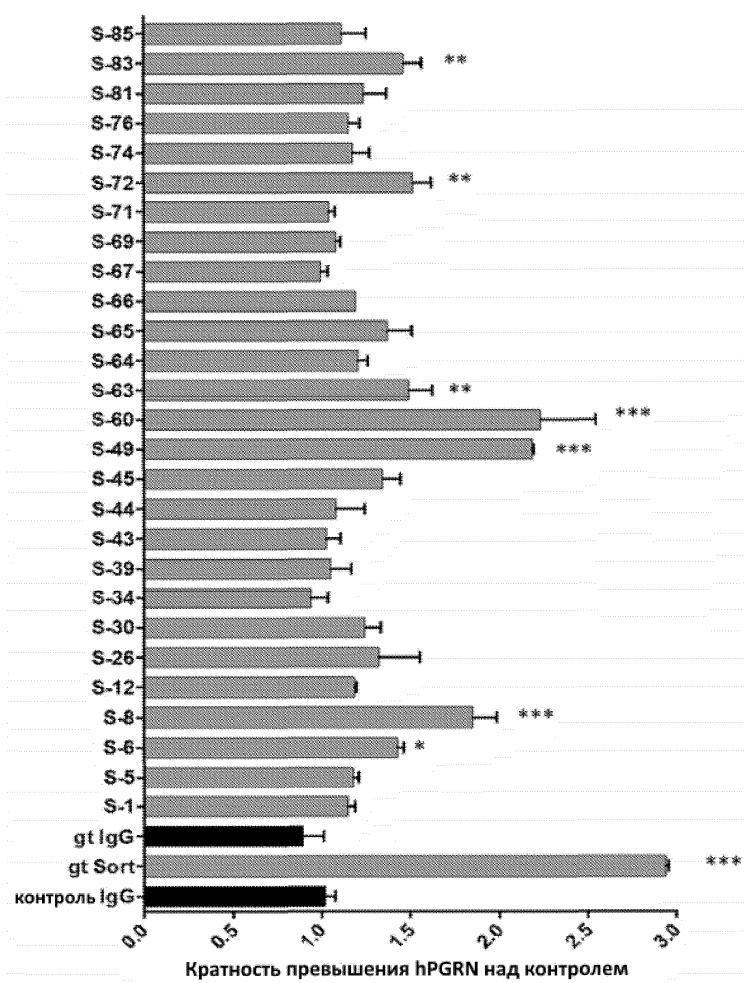
Фиг. 8С



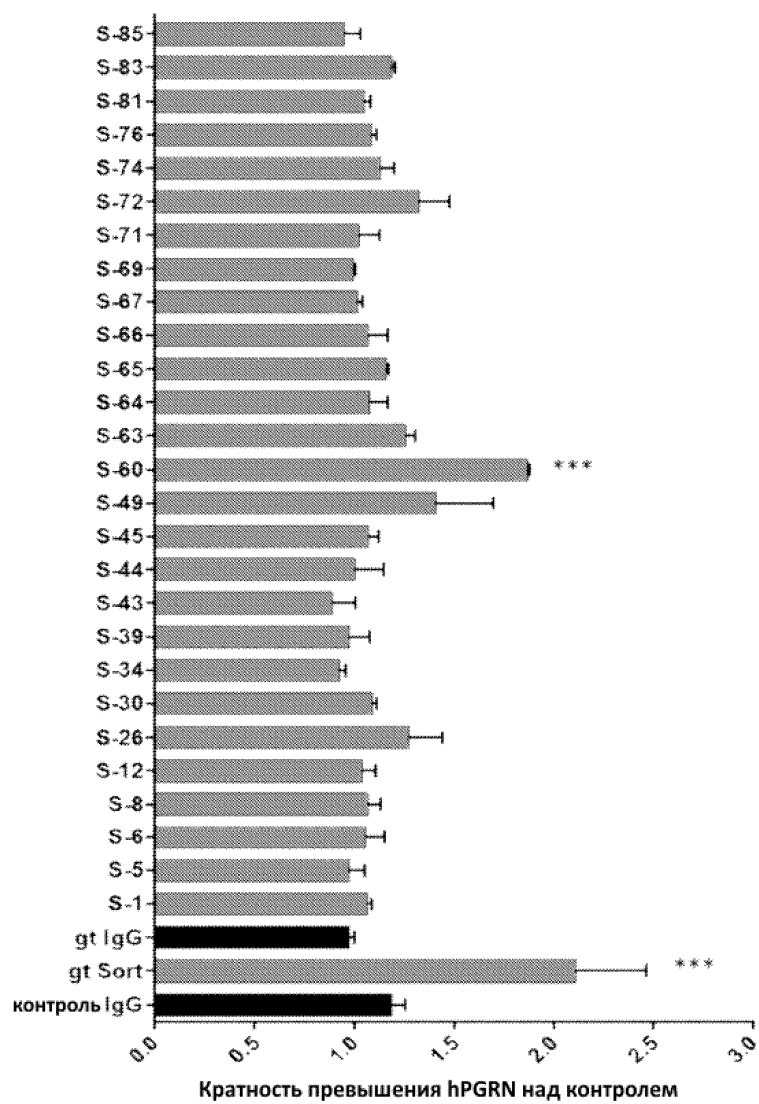
Фиг. 8D



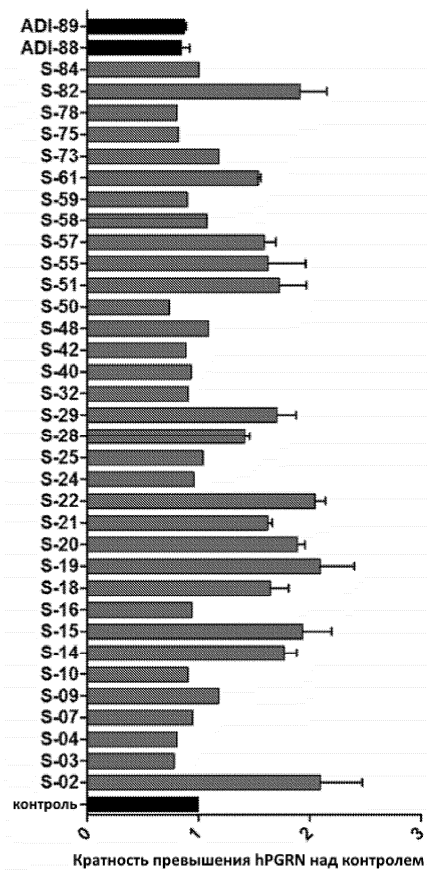
Фиг. 8Е



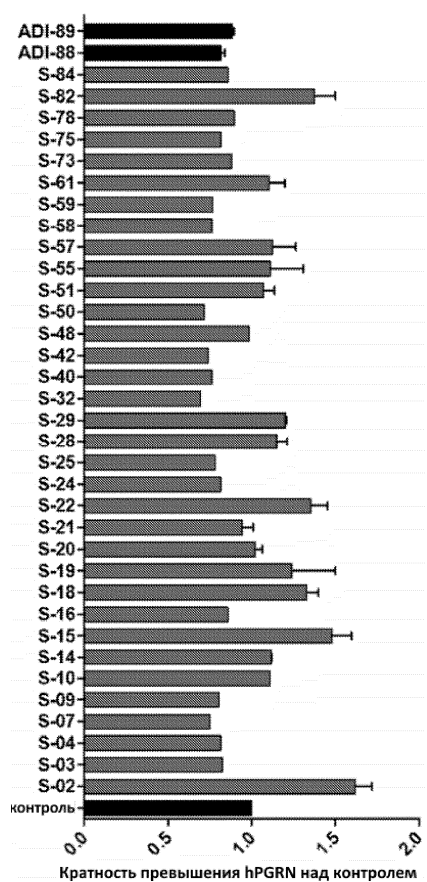
Фиг. 9А



Фиг. 9В

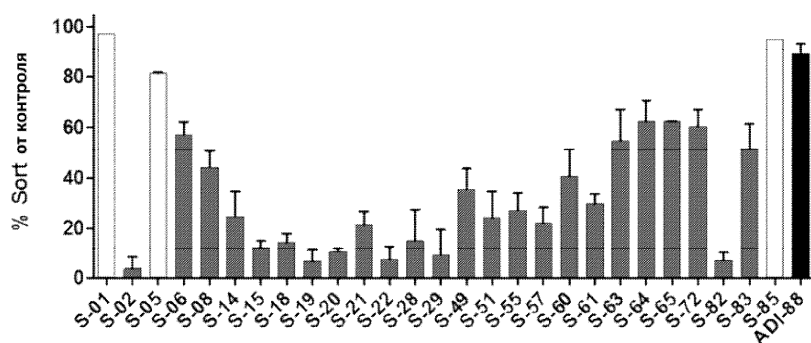


Фиг. 9C



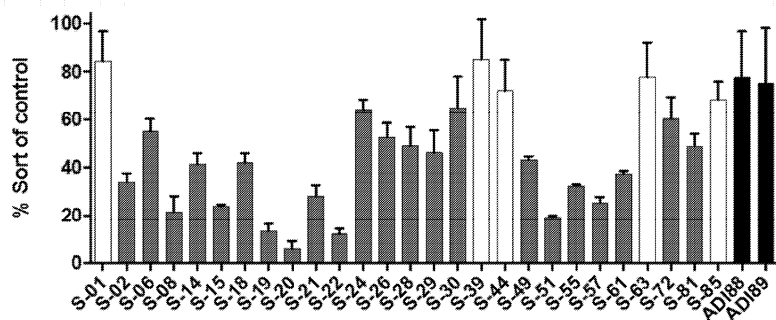
Фиг. 9D

Экспрессия Sort на поверхности клеток U251



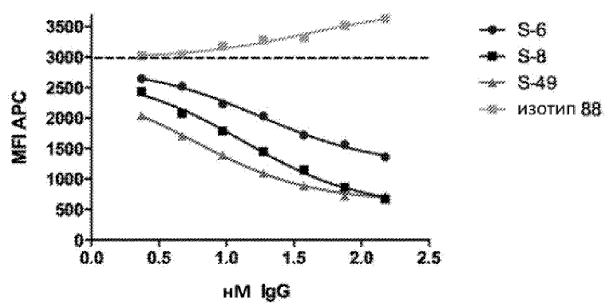
Фиг. 10А

Экспрессия Sort на поверхности мышинных клеток N2A



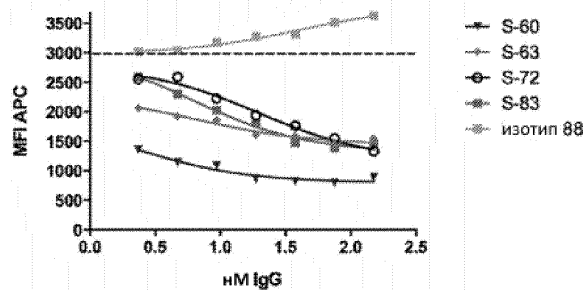
Фиг. 10В

Экспрессия сортина на поверхности клеток

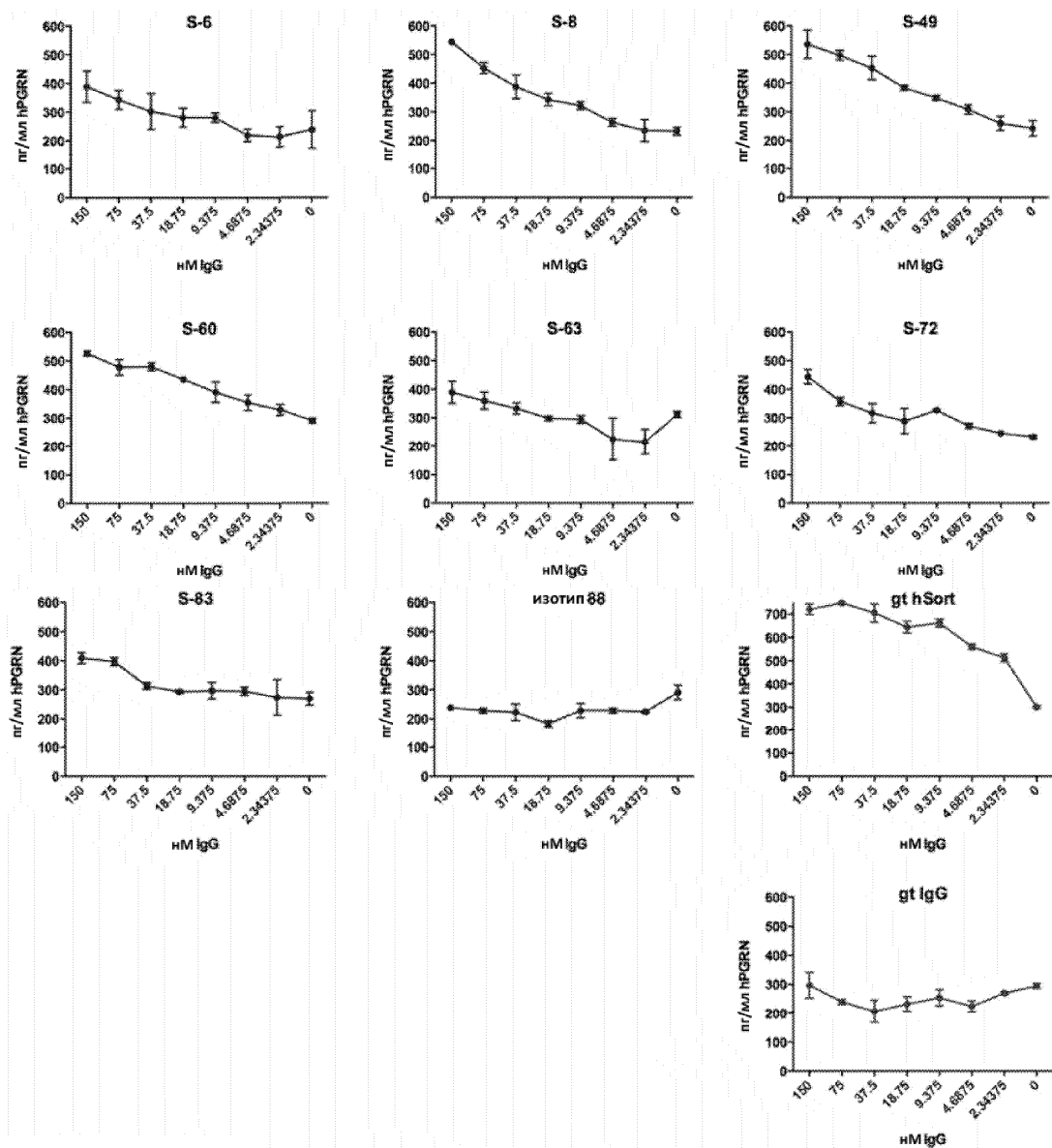


Фиг. 10С

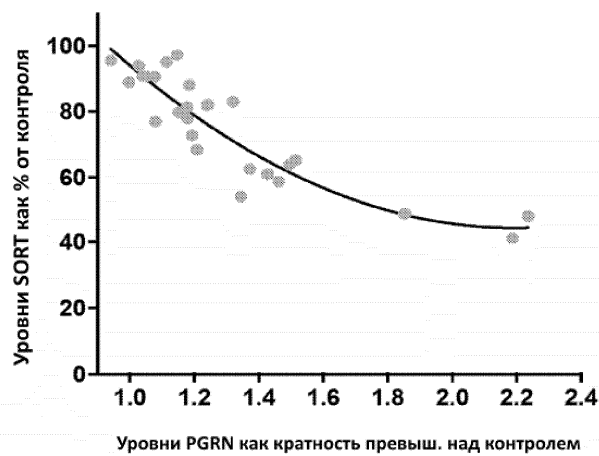
Экспрессия сортина на поверхности клеток



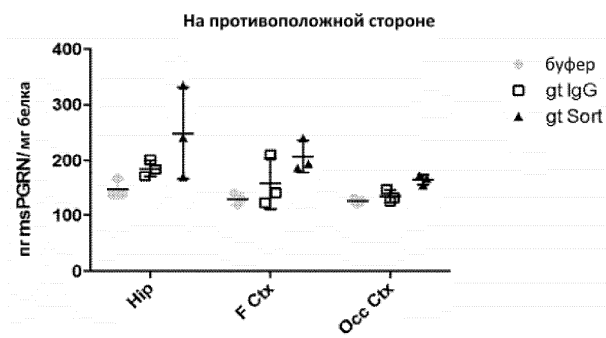
Фиг. 10D



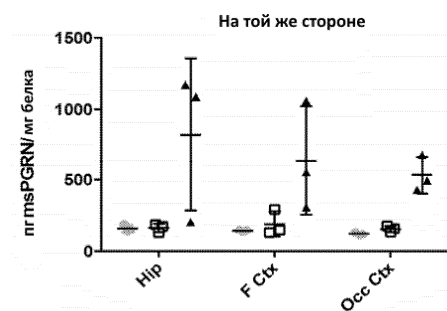
Фиг. 10Е



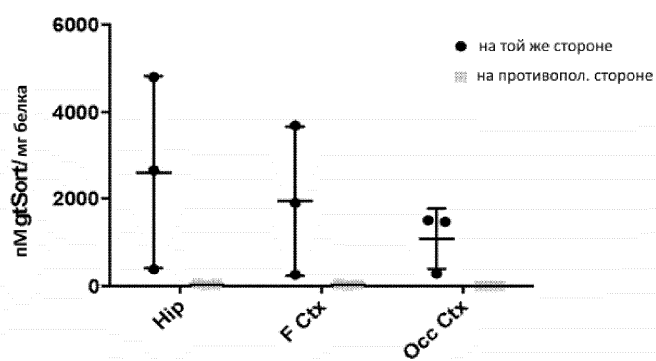
Фиг. 10F



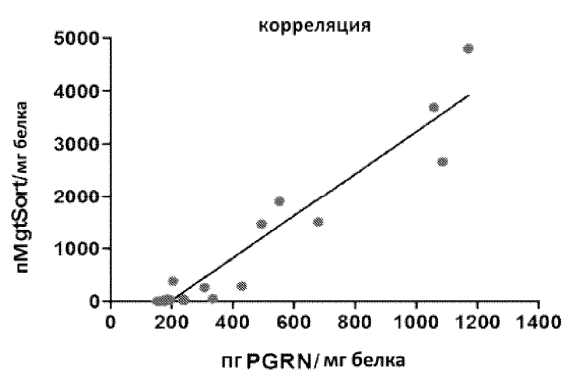
Фиг. 11А



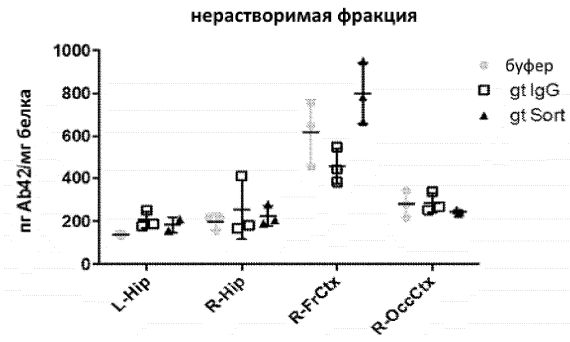
Фиг. 11В



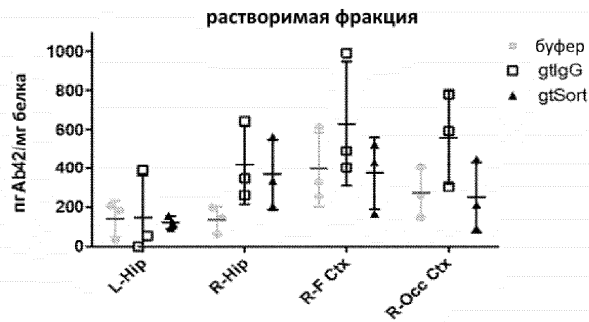
Фиг. 11С



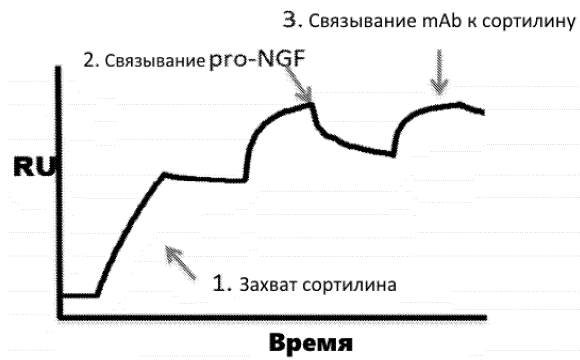
Фиг. 11D



Фиг. 11Е



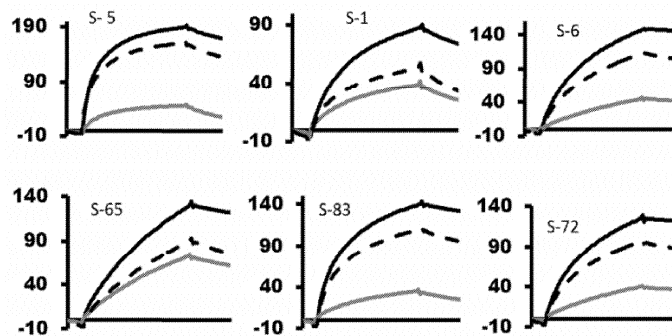
Фиг. 11F

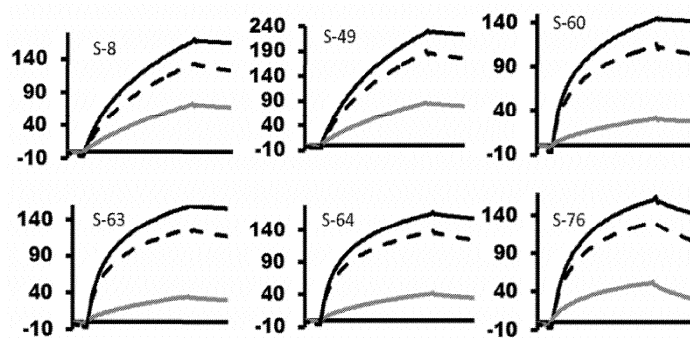


Фиг. 12А



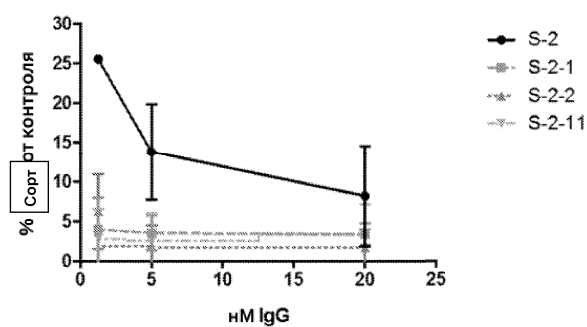
Фиг. 12В





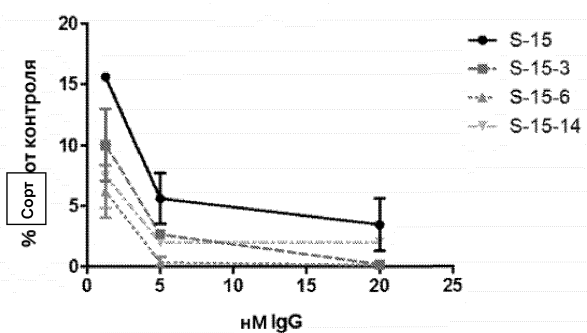
Фиг. 12С

S-2 U251



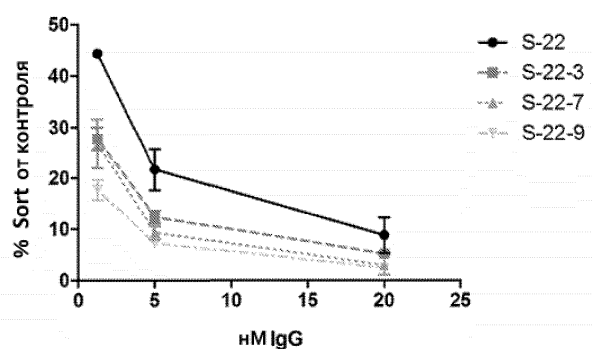
Фиг. 13А

S-15 U251

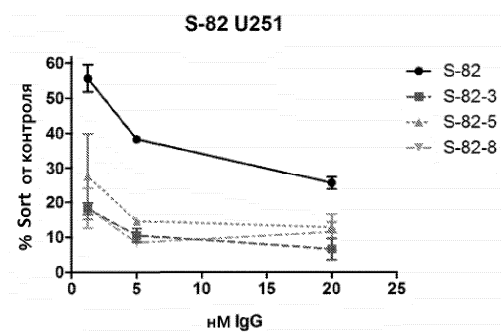


Фиг. 13В

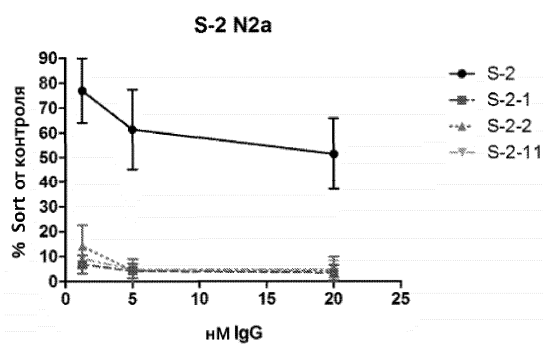
S-22 U251



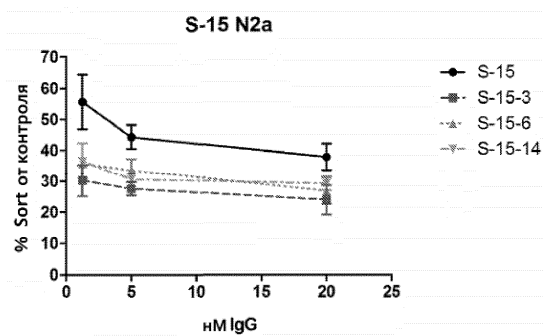
Фиг. 13С



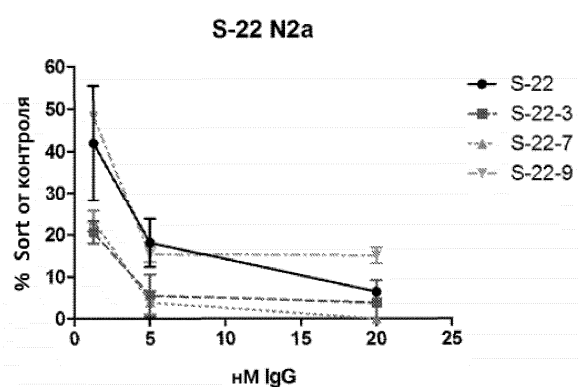
Фиг. 13D



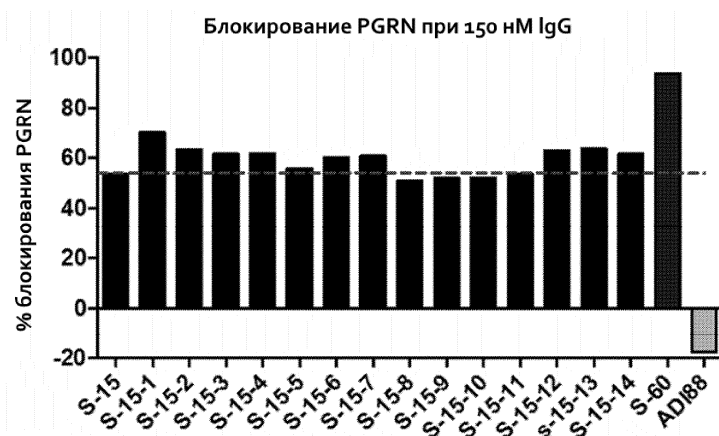
Фиг. 13E



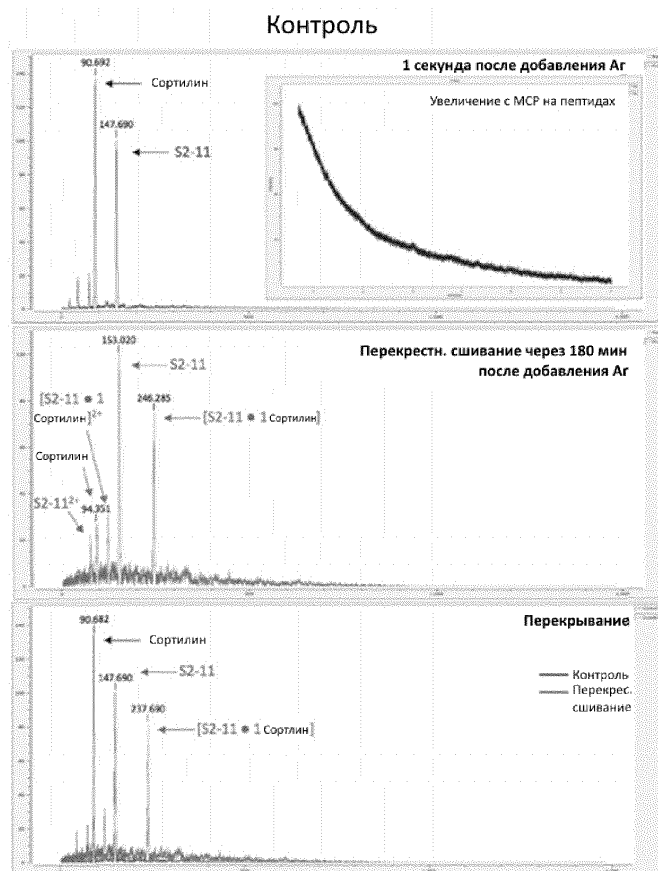
Фиг. 13F



Фиг. 13G

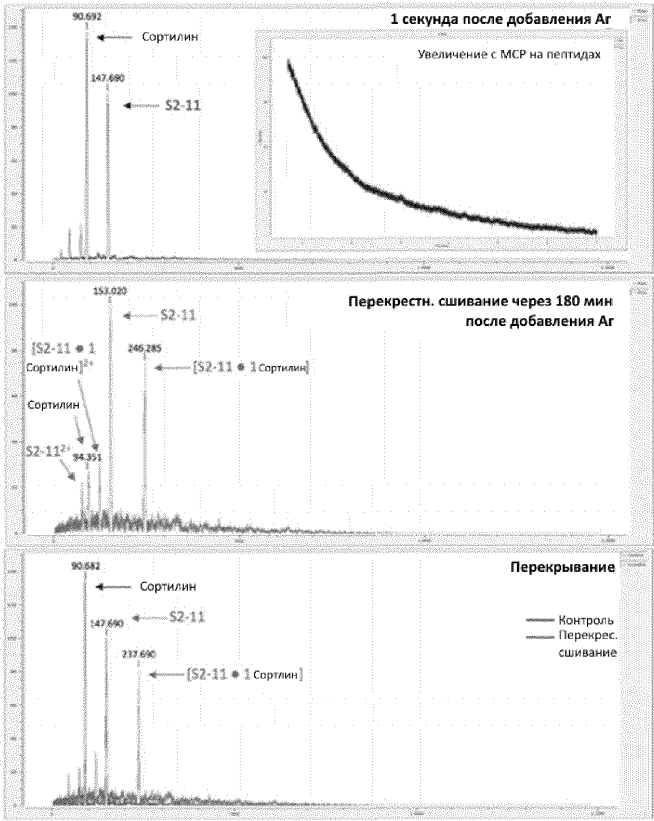


Фиг. 14



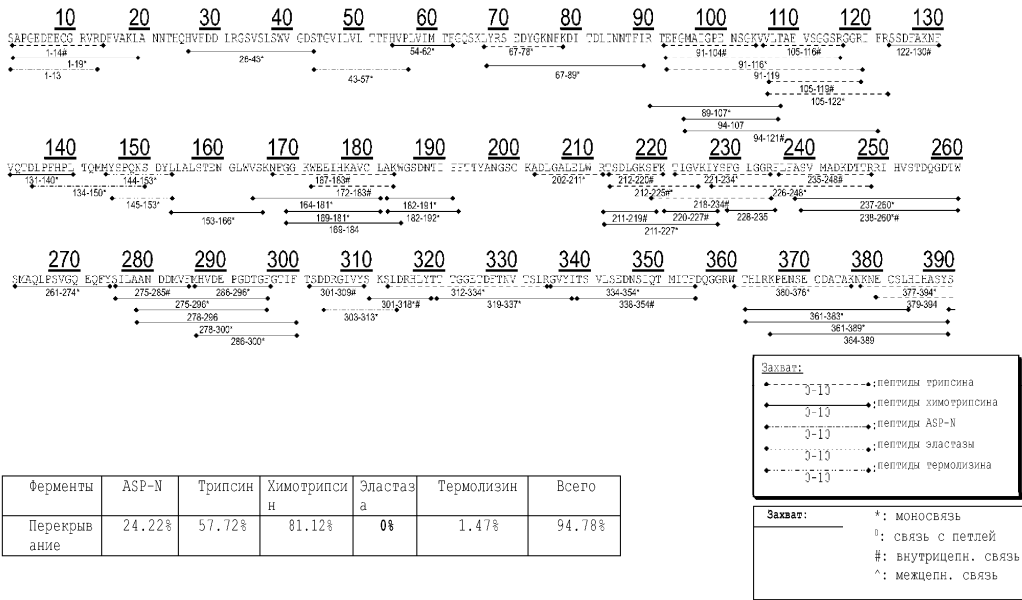
Фиг. 15А

Конкуренция

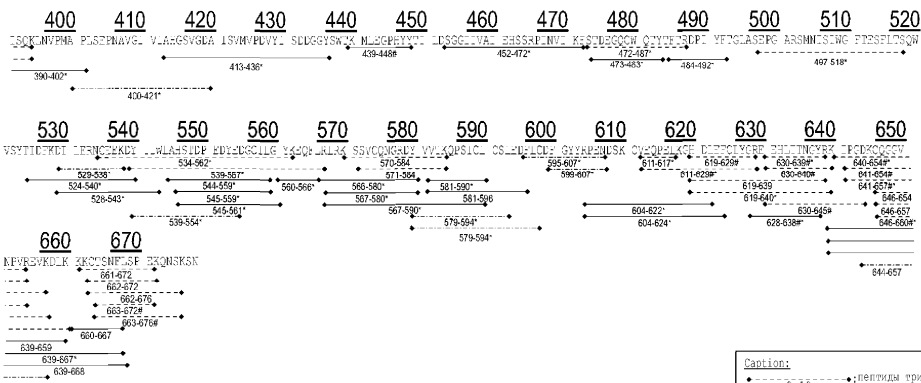


Фиг. 15В

Рекомбинантный сортилин человека



Рекомбинантный сортилин человека



Ферменты	ASP-N	Трипсин	Химотрипсин	Эластаза	Термолизин	Всего
Перекрывание	24.22%	57.72%	81.12%	0%	1.47%	94.78%

Сaption:

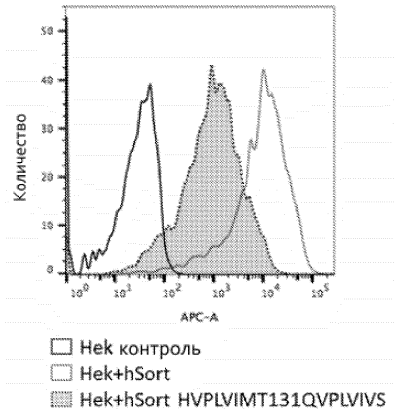
- 13: пептиды трипсина
- 13: пептиды химотрипсина
- 13: пептиды ASP-N
- 13: пептиды эластазы
- 13: пептиды термолизина

Сaption:

- *: моносвязь
- #: связь с петлей
- #: внутрцепн. связь
- ^: междцепн. связь

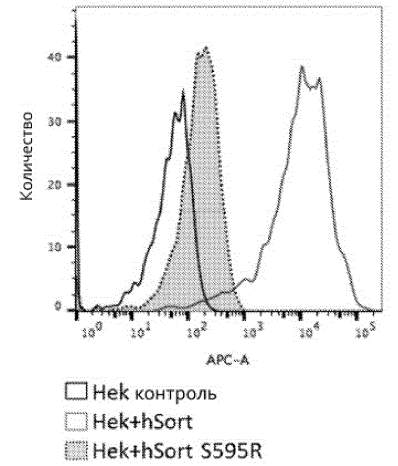
Фиг. 16А

S-30

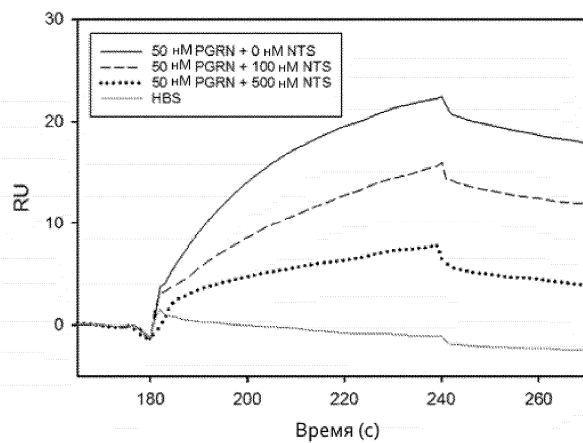


Фиг. 16В

S-60

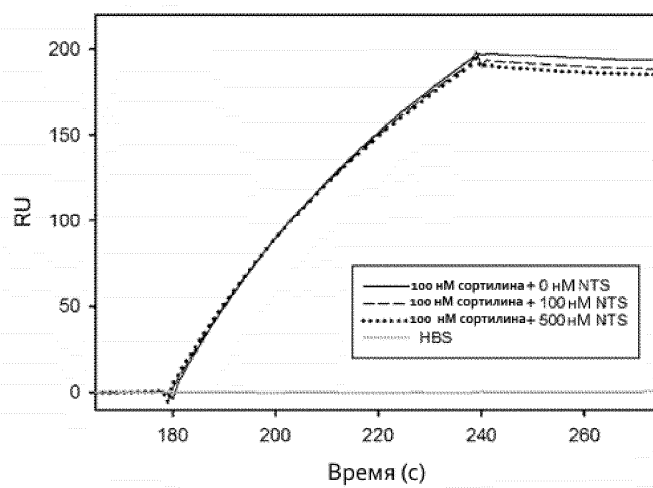


Фиг. 16С

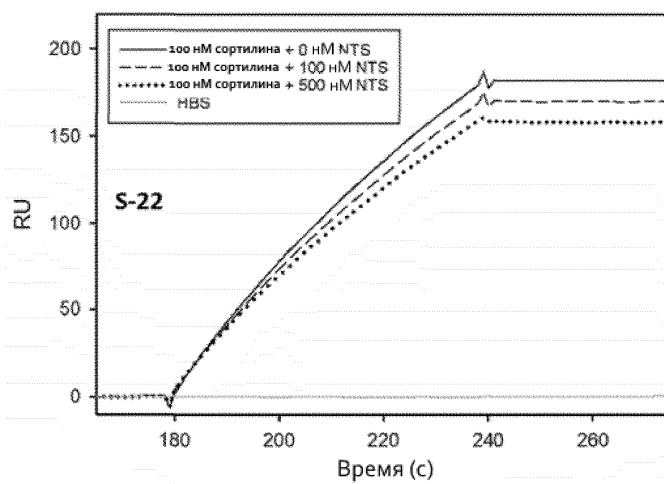


Фиг. 17А

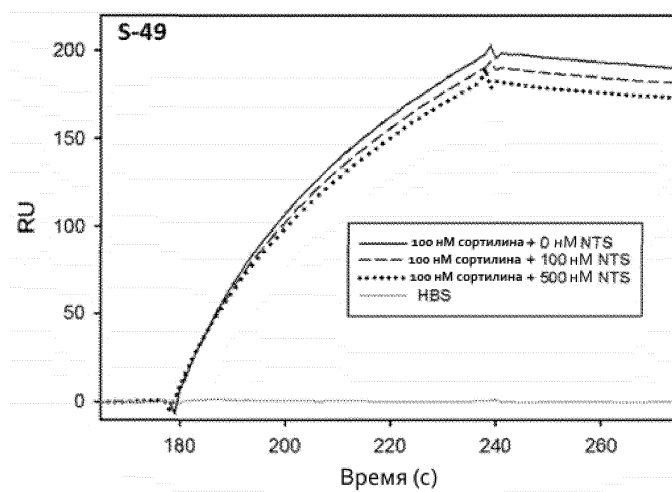
S-15



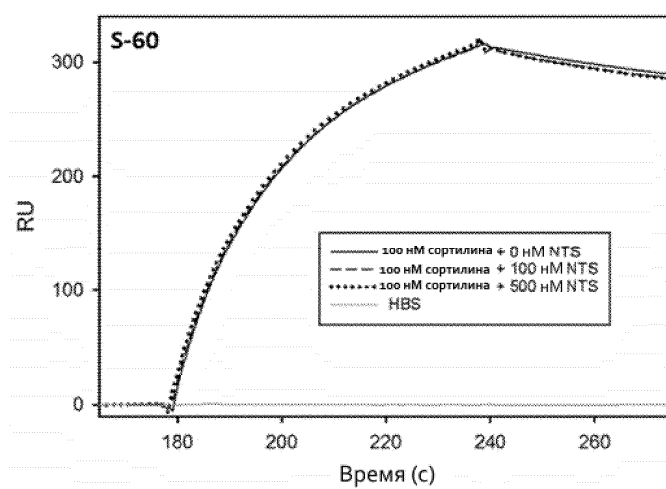
Фиг. 17В



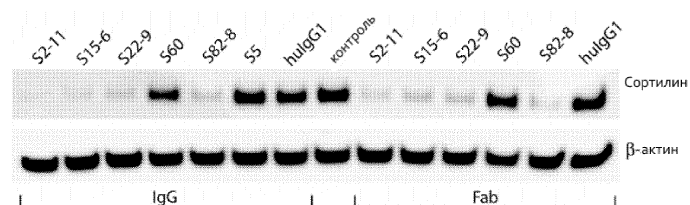
Фиг. 17С



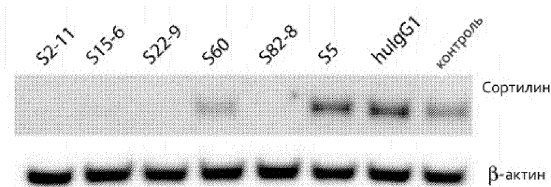
Фиг. 17D



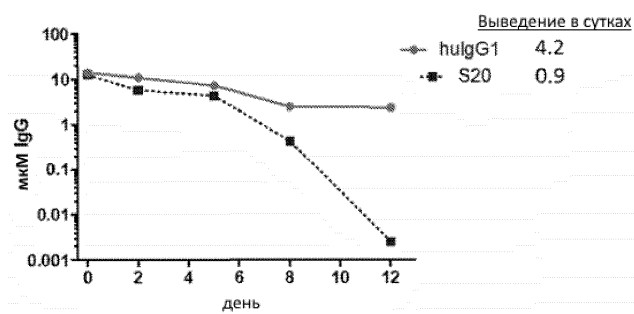
Фиг. 17E



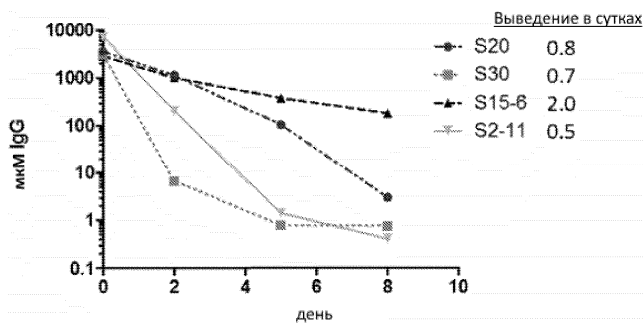
Фиг. 18A



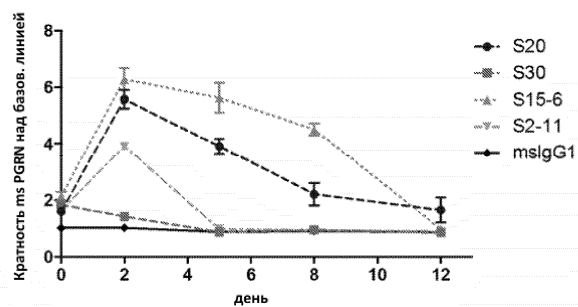
Фиг. 18B



Фиг. 19А



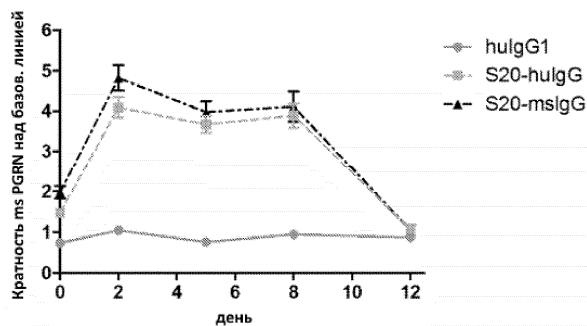
Фиг. 19В



Фиг. 20А

день	0 (4ч)	2	5	8	12
S20	**	****	****	***	незначимо
S30	***	незначимо	незначимо	незначимо	незначимо
S15-6	****	****	****	****	незначимо
S2-11	**	****	незначимо	незначимо	незначимо

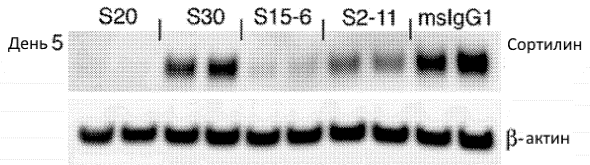
Фиг. 20В



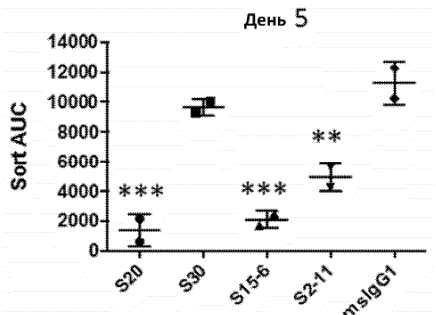
Фиг. 20С

день	0 (4 ч)	2	5	8	12
S20	***	****	****	****	*
hulgG					
S20	****	****	****	****	незначимо
mslgG					

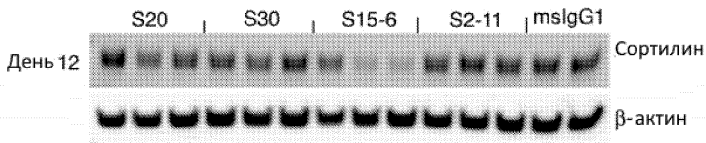
Фиг. 20D



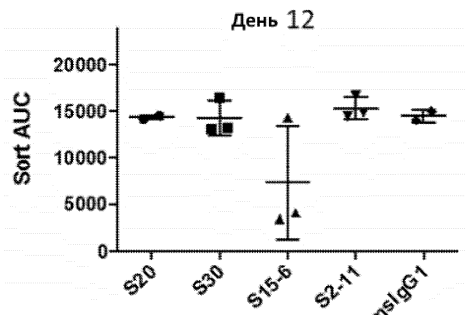
Фиг. 21A



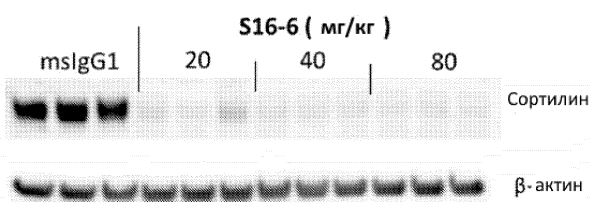
Фиг. 21B



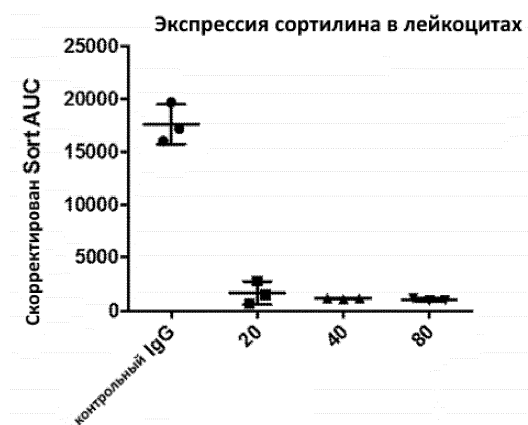
Фиг. 21C



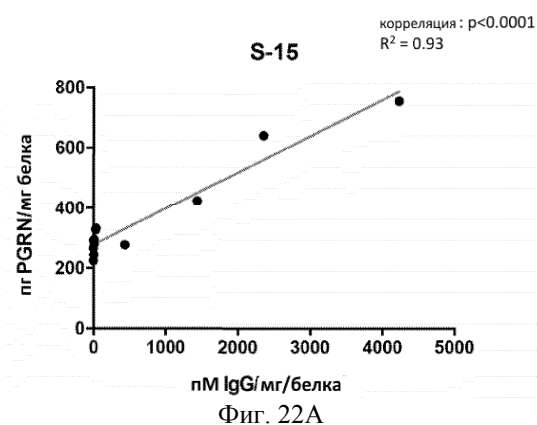
Фиг. 21D



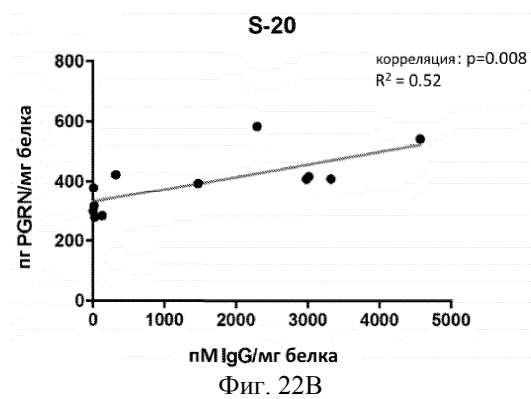
Фиг. 21E



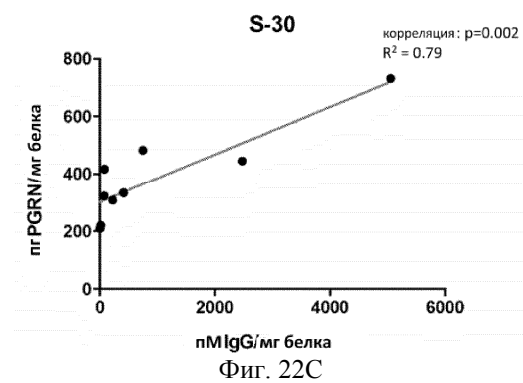
Фиг. 21F



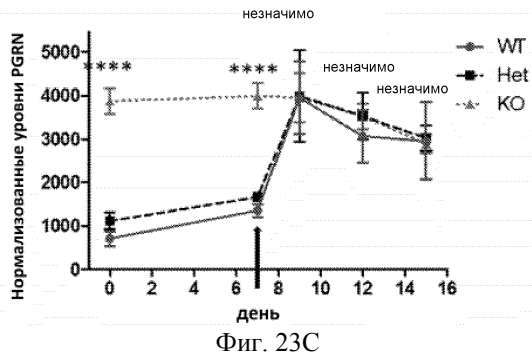
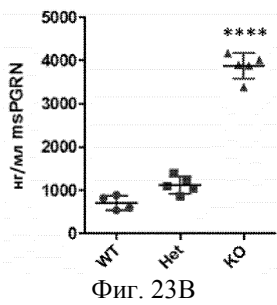
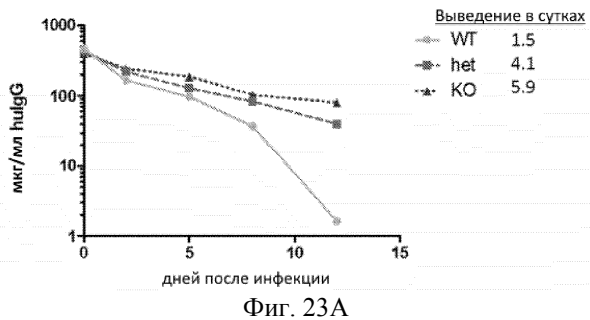
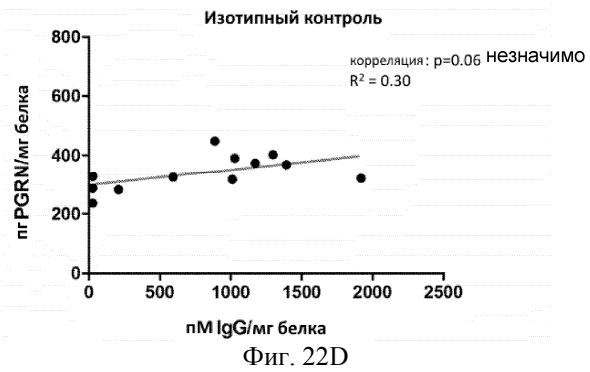
Фиг. 22А

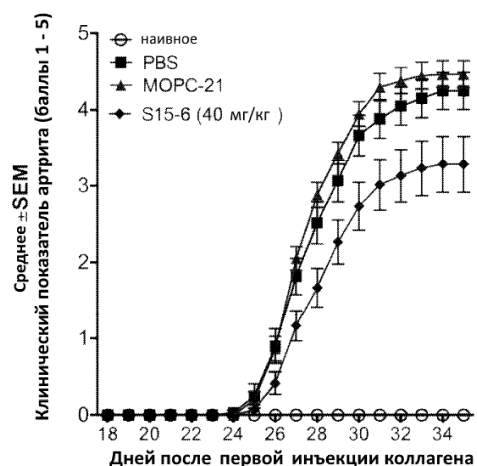


Фиг. 22В

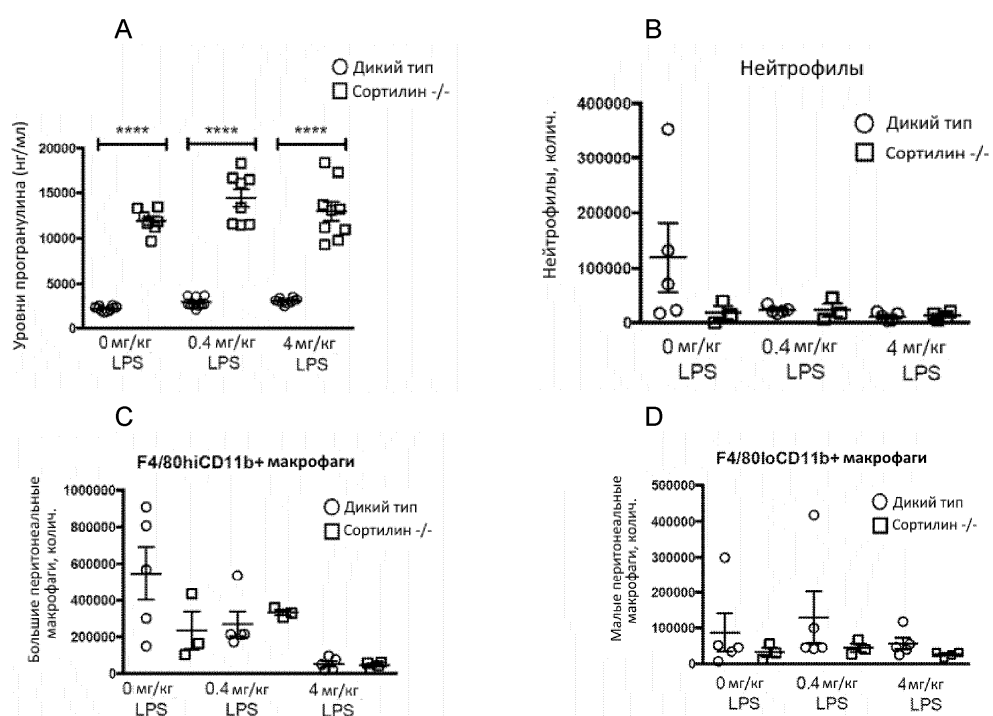


Фиг. 22С

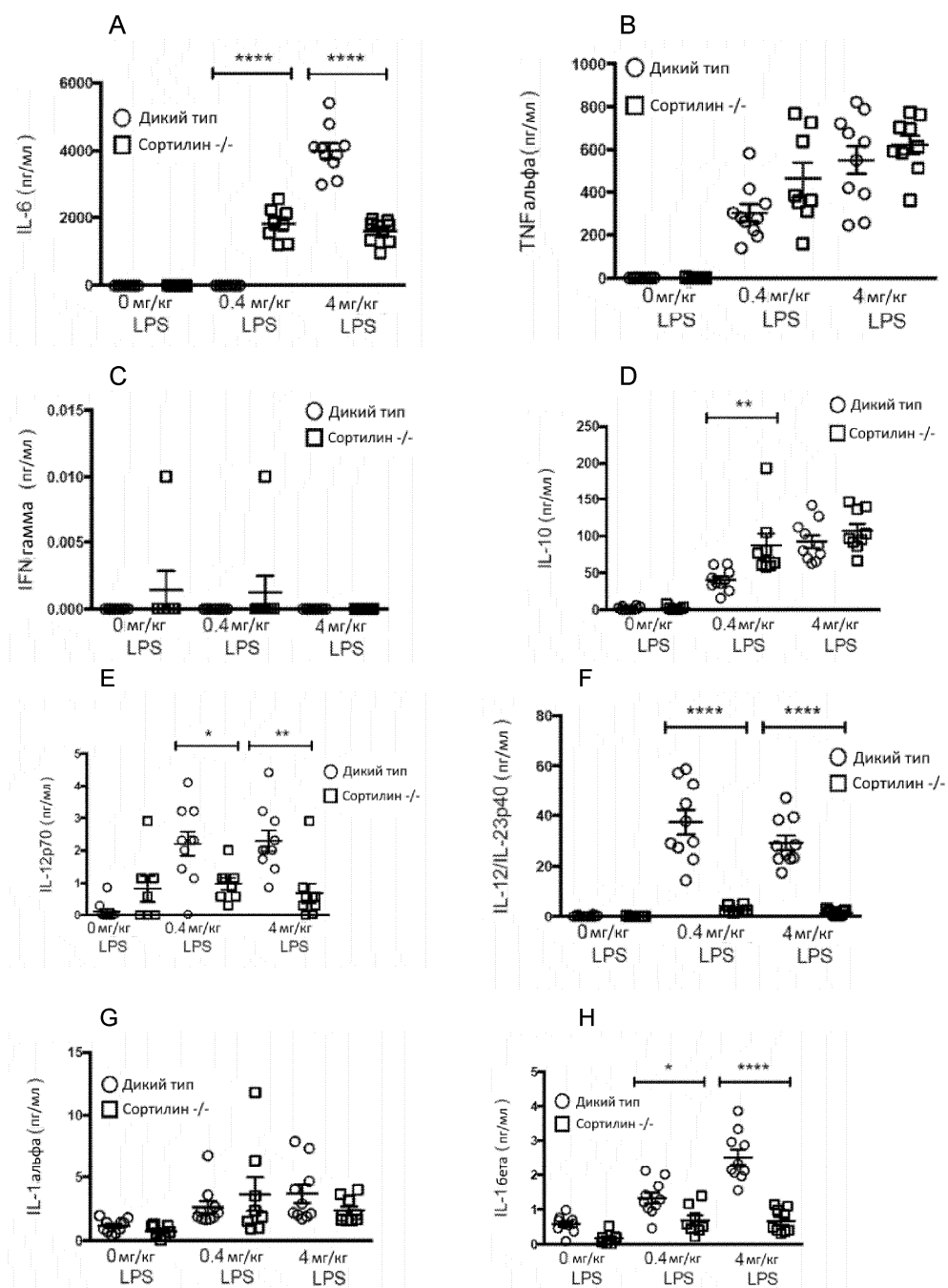




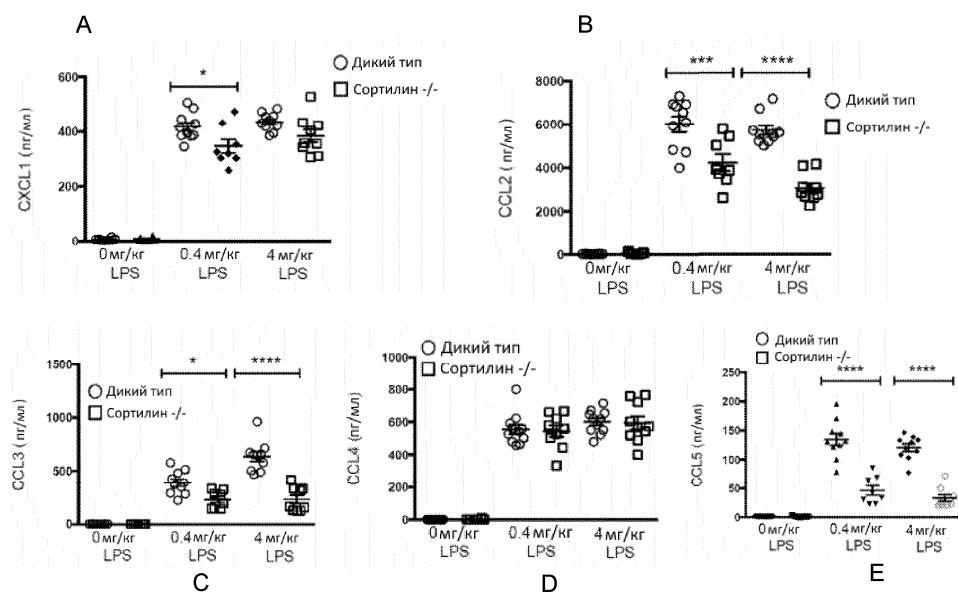
Фиг. 24



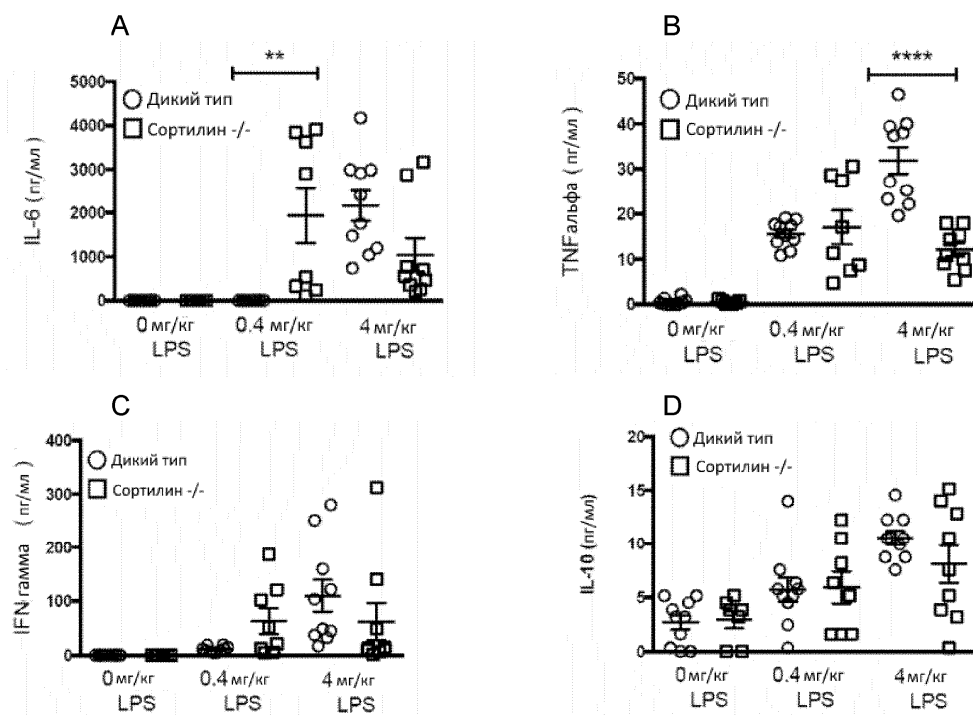
Фиг. 25

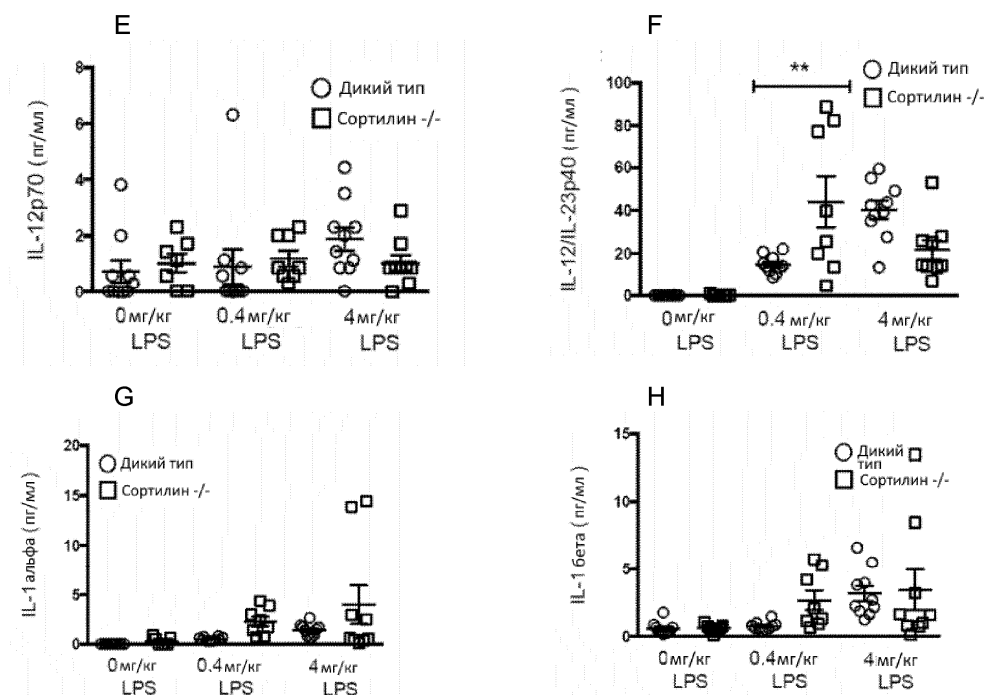


Фиг. 26

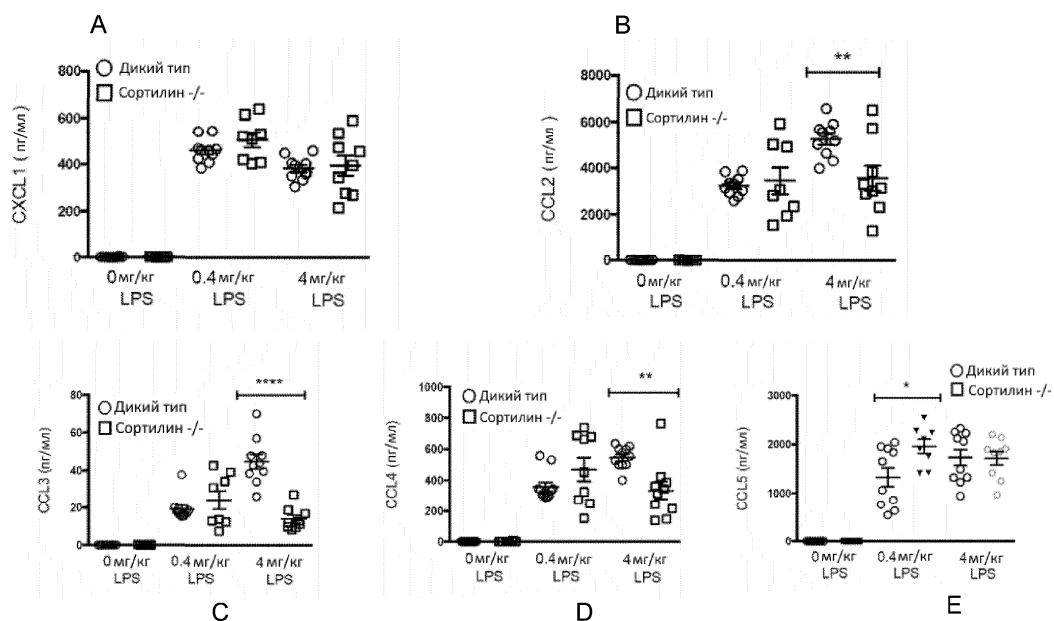


Фиг. 27





Фиг. 28



Фиг. 29

